

TESIS DE DOCTORADO

**ESTUDIO AGROMORFOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN
DE LAS GLUTENINAS DE ALTO PESO MOLECULAR DE
LOS ECOTIPOS AUTÓCTONOS GALLEGOS DE
TRITICUM AESTIVUM L.**

Luis Urquijo Zamora

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN AGRARIA Y FORESTAL

LUGO

2021





DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS

Estudio agromorfológico y caracterización de las gluteninas de alto peso molecular de los ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L.

D./Dña. Luis Urquijo Zamora

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) *La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.*
- 2) *En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.*
- 3) *La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.*
- 4) *Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.*

En A Coruña, 12 de febrero de 2021.

Fdo. Luis Urquijo Zamora.



D./Dna. **Benigno Ruiz Nogueiras**

En condición de: **Titor/a e director/a**

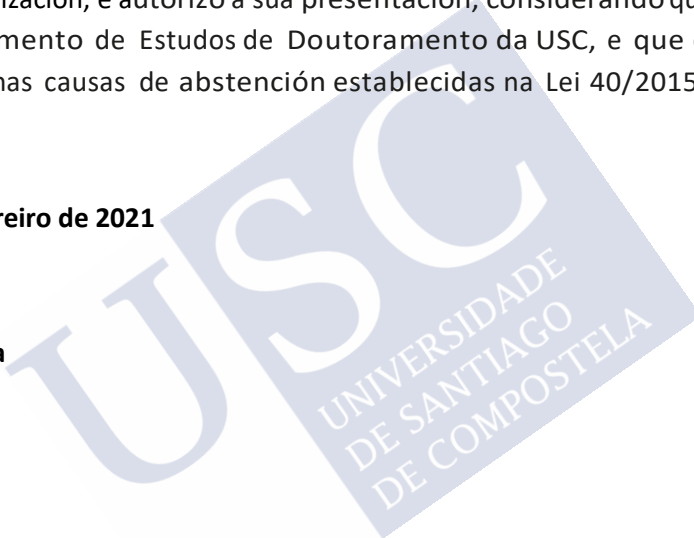
Título da tese: **Estudio agromorfológico y caracterización de las gluteninas de alto peso molecular de los ecotipos autóctonos gallegos de Triticum aestivum L.**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Luis Urquijo Zamora, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En Lugo , 09 de Febreiro de 2021

Sinatura electrónica





D./Dna. **Jose Alberto Oliveira Prendes**

En condición de: **Director/a**

Título da tese: **Estudio agromorfológico y caracterización de las gluteninas de alto peso molecular de los ecotipos autóctonos gallegos de Triticum aestivum L.**

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D/Dna Luis Urquijo Zamora, baixo a miña dirección/titorización, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director/titor desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En **Mieres, 09 de Febreiro de 2021**

Sinatura electrónica





La presente tesis de doctorado ha sido realizada en el Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (AGACAL-CIAM), dependiente de la Agencia Gallega de Calidad Alimentaria (AGACAL) de la Xunta de Galicia, y se enmarcó en los siguientes proyectos de investigación:

- Proyecto FEADER 2010-25, titulado “Consolidación do proceso de produción de trigo galego”, financiado por la Xunta de Galicia, y cofinanciadas con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (Feader), para el período 2010-2012.
- Proyecto FEADER 2013-65, titulado “Mellora da calidade das variedades autóctonas de trigo e do pan galego”, financiado por la Xunta de Galicia, y cofinanciadas con el Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural (Feader), para el período 2013-2015.





AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a las instituciones y organismos que han contribuido a la realización de este trabajo aportando financiación y medios para la elaboración de esta tesis:

Al Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM – AGACAL), por haberme proporcionado los medios técnicos y humanos necesarios para el trabajo de campo y de laboratorio.

A las empresas Calfensa Proyectos S. L. y Cervus Proyectos S. L., por haber colaborado en el desarrollo de proyectos de investigación, para la recuperación de los trigos gallegos.

Al Dpto. de Producción Vegetal de la Universidad de Santiago de Compostela (USC), por acoger este trabajo.

A la Estación de Ensayos de Semillas y Plantas de Vivero de Madrid (del INIA), por enseñarme las técnicas SDS-PAGE y ACID-PAGE.

También deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que de distintas formas han colaborado en este trabajo:

A mis co-directores Dr. Benigno Ruíz Nogueira y Dr. José Alberto Oliveira Prendes, por su apoyo y aliento constante para que terminara la tesis.

Al Dr. José Alberto Oliveira Prendes, a la Dra. Ana Belén Monteagudo Diz y al Dr. Jesús Moreno González, por su inestimable ayuda en la aplicación de modelos estadísticos a los datos recogidos de caracterización.

A D. Juan Piñeiro Andión, ex-director del Departamento de Pastos y Cultivos del CIAM, por su apoyo y orientaciones en el trabajo de campo, y por ser quién impulsó desde un principio la creación del Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno, y el estudio de las castas de trigo y su recuperación en el agro gallego. Gracias a su inestimable dirección y apoyo, hoy día se ha evitado la pérdida total de ecotipos de trigo autóctonos, y su parcial recuperación en explotaciones gallegas, ligadas a la “IXP Pan Galego”.

A D. Adalberto Alvarez González, fundador de Calfensa, por haber impulsado desde el comienzo la recuperación de las variedades autóctonas de trigo para conseguir un pan gallego basado en ellas, y por su colaboración estrecha con el CIAM.

A todo el personal de campo del CIAM que trabajó en la implantación y mantenimiento de los ensayos.

A Luz María Paz Vivas por formarme en las técnicas SDS-PAGE y ACID-PAGE, y a la Dra. Marta Rodríguez-Quijano Urquiaga por asesorarme en las técnicas electroforéticas y conseguirme los testigos necesarios para la identificación de subunidades de gluteninas.

A Angeles Román por su colaboración en la caracterización de los ecotipos gallegos, a Jaime Gutiérrez y María Bermudez por su colaboración en la realización de geles electroforéticos, así como a la Dra. Maria Belén Salleres Neira y a la Dra. Cristina Fernández Otero por su colaboración en la puesta a punto de la técnica PCR.



DEDICATORIA



A mi familia, especialmente a mi mujer, mi hija y mi madre, que me han apoyado y ayudado, para poder dedicarme de lleno a la tesis



RESUMEN

Entre los años 2002 y 2014, se realizaron sucesivas expediciones a las cuatro provincias gallegas, orientadas a la recolección de ecotipos de trigo y centeno autóctonos, para preservar la posible desaparición de combinaciones genéticas interesantes. Como consecuencia de esta recolección, hoy en día el Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM posee 199 accesiones de *Triticum aestivum* L., y 100 accesiones de *Secale cereale* L.

Se realizó una caracterización de las gluteninas de alto peso molecular, como factores principales de la calidad panadera, de 199 accesiones de trigo gallego. Se realizó un análisis de varianza y de regresión simple, para determinar el efecto de las variaciones alélicas de los distintos loci (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) en los descriptores de calidad del grano (PHL, PROT, SDSS, PMS). La identificación mediante técnicas electroforéticas fue complementada por el método PCR, permitiendo discriminar entre varias subunidades de gluteninas del locus *Glu-A1* en algunos ecotipos. Además, se analizó la variación genética entre y dentro de las poblaciones, empleando las frecuencias alélicas obtenidas para los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, en los 199 ecotipos de trigos autóctonos gallegos. Se realizó una estimación de la estructura genética mediante diversos parámetros (F_{ST} , F_{IT} y F_{IS} ; H_t , H_s , D_{ST} y G_{ST}), y un análisis de varianza molecular (AMOVA) para determinar la distribución de la varianza dentro y entre ecotipos usando los datos alélicos. Finalmente, se construyó un dendrograma de agrupación a partir de las distancias genéticas calculadas entre ecotipos, que permitió crear 17 grupos de ecotipos más homogéneos.

En las campañas agrícolas 2011/2012, 2012/2013 y 2013/2014, se realizaron ensayos de campo en Mabegondo, para la caracterización agromorfológica, botánica y de calidad de grano de 110 ecotipos de trigos del Banco de Cereales de Invierno. Para este trabajo se utilizaron 17 descriptores agromorfológicos cualitativos, ocho descriptores agromorfológicos cuantitativos, y cuatro descriptores de calidad del grano. Con los datos obtenidos, se caracterizaron las accesiones mediante análisis ANOVA y análisis de correlación, para los descriptores cuantitativos, y análisis Kruskal-Wallis para los descriptores cualitativos. Para poder ejecutar un análisis multivariante con descriptores cuantitativos y cualitativos, se calculó una matriz de similitud entre ecotipos, a partir de la cual se construyó el dendrograma de agrupación. Del análisis clúster, se determinó la

existencia de un patrón de agrupación de los ecotipos en 18 grupos. Para estimar los componentes de variabilidad genética para la diferenciación en grupos, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) y un ANOVA unifactorial, así como una comparación múltiple entre grupos. Finalmente, para el estudio de la distribución espacial se realizó un test de Mantel, en el que se compararon las matrices de distancias genéticas (matriz de distancias genéticas de Nei entre ecotipos y matriz de similitud entre ecotipos obtenida con el índice de Gower) y la matriz de distancia geográfica. Por otro lado, también se realizó un test parcial de Mantel, entre las matrices de distancias genéticas (matriz de distancias de Nei y matriz de similitud de Gower).

Se detectaron 24 alelos diferentes en los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, en la colección de 199 accesiones de trigo blando, evidenciando un gran polimorfismo. Se observaron 47 perfiles o patrones de gluteninas HMW, a partir de la combinación de los 24 alelos.

El estudio de la diversidad genética ha evidenciado el gran riesgo de erosión genética que presenta esta colección de trigos, debido a la alta frecuencia de unos pocos alelos, junto con una frecuencia muy baja de muchos alelos.

La presencia de alelos de buena calidad panadera (*Glu-A1y* y *Glu-B1f*) con alta frecuencia en la colección gallega, pero poco presentes en colecciones españolas y foráneas, evidencia la posibilidad de su uso futuro en programas de mejora del trigo

La detección en la colección gallega de subunidades de gluteninas HMW, en bajas frecuencias, que no se han observado en ningún estudio realizado con colecciones españolas y portuguesas de trigos harineros, y la ausencia en la colección gallega de otras HMW-GS comunes en la península ibérica y en Portugal, indican la existencia de un pool genético relativamente separado del resto de la península ibérica, pero con una gran cercanía a una población portuguesa denominada Barbela (originaria de la zona norte de Portugal).

La existencia de una estructuración entre las poblaciones de trigos gallegos ha permitido realizar una agrupación de los ecotipos, que supone un paso previo a la creación de una colección núcleo de las accesiones.

El material analizado se considera interesante dada su adaptación al medio gallego, tanto para la preservación de la diversidad autóctona existente, el registro de variedades de conservación en el Registro de Variedades Comerciales, como para el uso de dichas accesiones en futuros programas de mejora genética para la creación de cultivares adaptados a las localidades de origen y que preserven su calidad panadera.

SUMMARY

Several expeditions were made from 2002 to 2014 in the four provinces of Galicia, to collect wheat and rye landraces, to preserve them from the genetic diversity extinction. As a result of these expeditions, nowadays the Winter Cereal Germplasm Bank of CIAM stores 199 accessions of *Triticum aestivum* L., and 100 accessions of *Secale cereale* L.

The allelic variation of high molecular weight glutenins as principal determinants of bread quality was analysed in 199 Galician wheat landraces. An Analysis of variance (ANOVA) and a regression analysis was executed to determine the allelic effect of *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci on grain quality traits (PHL, PROT, SDSS, PMS). The identification by electrophoresis techniques was supported by the PCR method, allowing to discriminate among several alleles of the *Glu-A1* locus in some landraces. In addition, genetic variation between and within populations was calculated from allelic frequencies estimated for *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci, in the 199 Galician wheat landraces. An estimation of the level of genetic structure was made from genetic variability parameters (F_{ST} , F_{IT} y F_{IS} ; H_T , H_S , D_{ST} y G_{ST}), and an Analysis of Molecular Variance (AMOVA) was made to calculate the distribution of the variance between and within landraces using allelic frequencies. Finally, a cluster dendrogram was made from genetic distances calculated among landraces, which lead to create 17 landrace clusters with greater homogeneity.

In 2011/2012, 2012/2013 and 2013/2014 crop growing seasons, field experiments were made in Mabegondo site, to make the agromorphological, botanical and grain quality characterization of 110 landraces stored in Winter Cereal Germplasm Bank of CIAM. For this work, 17 qualitative agromorphological traits, eight quantitative agromorphological traits, and four grain quality traits were utilized. An ANOVA and correlation analysis were made from quantitative traits, and Kruskal-Wallis analysis from qualitative traits.

A similarity matrix among 110 landraces was made, from 13 quantitative and qualitative agromorphological traits, to execute a cluster multivariate analysis to obtain an aggregation dendrogram. From cluster analysis an aggregation pattern in 18 groups of landraces was determined. An Analysis of Molecular Variance (AMOVA), an Analysis of variance (ANOVA), and a multiple comparison among groups were made to estimate genetic variability components to differentiate among groups. Finally, a Mantel test was

made to study the spatial distribution, in which were compared Nei's genetic distance matrix, Gower similarity matrix among landraces and a geographical distance matrix. On the other way, a partial Mantel test, between Nei's genetic distance matrix and Gower similarity matrix was made.

Twenty-four different alleles were detected among *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* loci in the Galician collection of 199 accessions, showing a high polymorphism. Forty-seven different HMW-GS patterns were found, from the combination of the 24 alleles.

The genetic diversity study has highlighted the high genetic erosion risk that show this wheat collection, due to the high frequency of a few alleles and the very low frequency of several alleles.

The presence in high frequencies in Galician wheat collection of alleles of good baking quality (*Glu-A1y* y *Glu-B1f*), but few presents in other Spanish and foreign collections, gives the possibility of future use in wheat breeding programs.

Some clues lead to think of the existence of a Galician genetic pool apart from those Iberian Peninsula ones, because the presence of allelic forms in Galician wheats that have not been described in Spanish and Portuguese collections, and for the lack of some very common alleles in Spanish and Portuguese collections, which have not been detected in Galician wheats at all. However, it seems that exist a close relationship of the Galician genetic pool with a northern Portuguese population named "Barbela".

A genetic structure has been determined among Galician wheat landraces, which allowed a grouping of the landraces, that it is the first step in creating the core collection.

The analysed material is considered valuable because of its environmental adaptation to Galician environment. Consequently, it is necessary to maintain the autochthonous genetic diversity, and their partial inclusion in the Commercial Varieties Registry, for their use in breeding programs to develop cultivars better adapted to localities of origin, preserving too their bread wheat quality.

RESUMO

Entre os anos 2002 e 2014, realizáronse sucesivas expedicións ás catro provincias galegas, orientadas á recolección de ecotipos de trigo e centeo autóctonos, para preservar a posible desaparición de combinacións xenéticas interesantes. Como consecuencia desta recolección, o Banco de Cereais de Inverno do CIAM posúe 193 accesións de *Triticum aestivum* L., e 100 accesións de *Secale cereale* L.

Realizáronse ensaios de campo en Mabegondo entre 2011-2013, para a caracterización agromorfolóxica e de calidade de gran de 110 ecotipos de trigos do Banco de Cereais de Inverno. Utilizáronse 17 descritores agromorfolóxicos cualitativos, oito descritores agromorfolóxicos cuantitativos, e catro descritores de calidade do gran. Con estes datos realizáronse análises univariantes (ANOVA, coeficiente de regresión) e análise multivariante mediante compoñentes principais para estudar os distintos grupos existentes dentro da colección.

Para coñecer a calidade panadeira da totalidade das accesións do Banco, realizouse un estudo das gluteninas de alto peso molecular, que definen o 60% da devandita calidade, realizándose un análise clúster para definir os grupos existentes dentro da colección. Ademais, analizouse a variación xenética entre e dentro das poboacións de trigo, empregando as frecuencias alélicas obtidas para os loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, nos 199 ecotipos de trigos autóctonos galegos.

Para descubrir posibles duplicidades no Banco de Xermoplasma de Cereais de Inverno, estudáronse conxuntamente os dendrogramas conseguidos mediante o estudo agromorfolóxico realizado e mediante os datos de HMW- GS.

O material analizado considérase interesante dada a súa adaptación ao medio galego, tanto para a preservación da diversidade autóctona existente, o rexistro de variedades de conservación no Rexistro de Variedades Comerciais, como para o uso de ditas accesións en futuros programas de mellora xenética para a creación de cultivares adaptados ás localidades de orixe e que preserven a súa calidade panadeira.



ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS Y SÍMBOLOS

*, **, ***: significativo al nivel 5, 1 y 0,1%, respectivamente
AFLPs: Amplified Fragment Length Polymorphisms (polimorfismos de longitud de los fragmentos amplificados)
ACP: análisis de componentes principales
ADN: ácido desoxirribonucleico
AEA: Anuario de Estadística Agraria
AGACAL: Axencia Galega de Calidade Alimentaria
AMOVA: análisis de varianza molecular
ANOVA: análisis de varianza
BARB: variedad botánica *barbarossa*
BCOL: descriptor de color de las barbas
BLON: descriptor de longitud de las barbas
Blq: bloque
bp: base pair (par de bases)
BRUG: descriptor de rugosidad de las barbas
CDB: Convenio sobre la Diversidad Biológica
CIAM: Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo
CIMMYT: Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo
cm: centímetros
DESP: días desde siembra hasta espigado
DLLG: período de llenado del grano
DMAD: días desde siembra hasta madurez fisiológica
dNTPs: desoxinucleótidos trifosfato
D_{ST}: diversidad genética entre subpoblaciones
EDEN: descriptor de densidad de la espiga
EESPNUM: descriptor de número de espiguillas por espiga
ELON: descriptor de longitud de la espiga
ENC: descriptor de porcentaje de encamado
ERYT: variedad botánica *erythrospermum*
F: prueba F de Fisher
FAO: Food and Agriculture Organization
FERR: variedad botánica *ferrugineum*
F_{IS}: coeficiente endogamia intra-poblacional
F_{IT}: coeficiente endogamia total de la población
F_{ST}: coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones
FV: fuente de variación
g: gramos
GFORP: descriptor de forma del pico de la gluma inferior
GCOL: descriptor de color de la gluma
GFOR: descriptor de forma de la gluma inferior
GFHO: descriptor de forma del hombro de la gluma inferior
GLONP: descriptor de longitud de pico de la gluma inferior
GIVELL: descriptor de vellosoidad interna de la gluma
GEVELL: descriptor de vellosoidad externa de la gluma
GANC: descriptor de anchura del hombro de la gluma inferior
GL: grados de libertad
HCRE: descriptor de hábito de crecimiento

HMW: alto peso molecular
 HMW-GS: gluteninas de alto peso molecular
 Ho: heterocigosidad observada
 HOST: variedad botánica *hostianum*
 He: heterocigosidad esperada
 IBPGR: International Board for Plant Genetic Resources (Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos)
 IPGRI: Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos
 ISSRs: Inter simple sequence repeats (secuencias repetidas intersimples)
 L: extensibilidad de la masa
 LMW-GS: gluteninas de bajo peso molecular
 MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación
 m: metros
 m s.n.m: metros sobre el nivel del mar ONU: Organización de las Naciones Unidas
 ml: mililitro
 mm: milímetro
 NA: número medio de alelos por locus
 NS: no significativo
 P: tenacidad de la masa
 P/L: ratio tenacidad/extensibilidad de la masa
 PROT: descriptor de porcentaje de proteína
 PHL: descriptor de peso hectolítrico
 PMS: descriptor de peso de mil granos
 PALT: altura de la planta
 PCR: reacción en cadena de la polimerasa
 R^2 : porcentaje de variación explicado por el modelo en el análisis de la varianza.
 RFLPs: Restriction Fragment Length Polymorphisms
 RAPDs: Random Amplified Polymorphic DNAs
 RDTO: descriptor de rendimiento
 rpm: revoluciones por minuto
 SDSS: descriptor de volumen de sedimentación en SDS
 SCOL: descriptor de color de la semilla
 SFOR: descriptor de forma del grano
 STAM: descriptor de tamaño de la semilla
 SDS-PAGE: electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de sodio dodecil-sulfato
 SSRs: Simple Sequence Repeats (microsatélites)
 s.m.s: sobre materia seca
 TCOL: descriptor de color del tallo
 TEMED: N, N, N, N'-tetrametilendiamina.
 TSEC: descriptor de sección del tallo
 UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean
 UPOV: Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales
 W: fuerza panadera de la masa

INDICE DE TABLAS

CAPÍTULO I

Tabla 1. Puntuaciones de calidad asignadas a las subunidades de gluteninas HMW	13
Tabla 2. Tipo de alelos óptimos de HMW-GS según finalidad	13
Tabla 3. Marcador UMN19 para las HMW-GS del locus <i>Glu-A1</i>	16
Tabla 4. Reactivos para amplificación en PCR	27
Tabla 5. Tamaño de bandas de alelos <i>Glu-A1</i> usando primers UMN19F y UMN19R.....	29
Tabla 6. Frecuencia de las subunidades HMW del locus <i>Glu-A1</i>	35
Tabla 7. Frecuencia de las subunidades HMW del locus <i>Glu-B1</i>	37
Tabla 8. Frecuencia de las subunidades HMW del locus <i>Glu-D1</i>	40
Tabla 9. Frecuencia de los perfiles de HMW-GS de las 199 accesiones de trigo	44
Tabla 10. Puntuación de perfiles de HMW-GS de las 199 accesiones de trigo	46
Tabla 11. Efecto de los loci <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> , <i>Glu-D1</i> en la calidad de grano de 110 accesiones de trigo	47
Tabla 12. Efecto de los loci <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> , <i>Glu-D1</i> en la calidad de grano de 110 accesiones de trigo, desglosado por factores	49
Tabla 13. Efecto de los tres loci <i>Glu-1</i> en PHL, por regresión.....	52
Tabla 14. Efecto de los tres loci <i>Glu-1</i> en SDSS, por regresión.....	52
Tabla 15. Efecto de los tres loci <i>Glu-1</i> en PMS, por regresión	53
Tabla 16. Frecuencias medias de los alelos de los tres loci estudiados, detectados en las 199 ecotipos de trigo gallego	54
Tabla 17. Parámetros de diversidad genética en 199 accesiones de trigo gallego	55
Tabla 18. Estadísticos F de Wright del loci <i>Glu-1</i> para las 199 accesiones locales de trigo gallego	56
Tabla 19. Diversidad genética existente en los 199 ecotipos de trigo gallegos	56
Tabla 20. Análisis de varianza molecular (AMOVA) desglosado por locus y en conjunto de los tres loci, en 199 accesiones de trigo gallego.....	57
Tabla 21. Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}), calculado por el AMOVA, para los loci <i>Glu-1</i> , en 199 accesiones locales de trigo gallego	58
Tabla 22. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 17 grupos obtenidos en el dendrograma con los 199 ecotipos de trigo gallegos	59
Tabla 23. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 17 grupos obtenidos en el dendrograma, desglosado por locus, en 199 accesiones de trigo gallego	60
Tabla 24. Agrupación de los 199 ecotipos de trigo gallegos en 17 grupos obtenidos por sus semejanzas en HMW-GS codificados por los loci <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> y <i>Glu-D1</i>	61

CAPÍTULO II

Tabla 25. Esquemas taxonómicos del género <i>Triticum</i>	96
Tabla 26. Esquemas taxonómicos del género <i>Triticum</i> de Dorofeev <i>et al.</i> , Mac Key y van Slageren	96
Tabla 27. Descriptores agromorfológicos cualitativos.....	114
Tabla 28. Descriptores agromorfológicos cuantitativos	122
Tabla 29. Descriptores de calidad de grano	125

Tabla 30. Valores para el estudio de la normalidad de PALT, ELON, EESPN, EDEN y RDTO.....	131
Tabla 31. Estadísticos simples de descriptores agromorfológicos cuantitativos	132
Tabla 32. Estadísticos simples de descriptores agromorfológicos cuantitativos, desglosados para factor genotipo y año.....	132
Tabla 33. Medias anuales de descriptores agromorfológicos cuantitativos	140
Tabla 34. Matriz de correlaciones de Pearson y significancia (p-valor), de parámetros PALT, ELON, EESPN, EDEN, RDTO	146
Tabla 35. Matriz de correlaciones de Spearman y significancia (p-valor) de descriptores RDTO de descriptores RDTO, DESP y DMAD.....	146
Tabla 36. Matriz de correlaciones de Spearman y significancia (p-valor) de descriptores RDTO, DESP, DMAD y DLLG, desglosados por años	147
Tabla 37. Análisis Kruskal-Wallis de los 17 descriptores cualitativos en 110 ecotipos de trigo gallego.....	148
Tabla 38. Acciones de trigo según la clasificación de Lagasca y Clemente.....	151
Tabla 39. Estadísticos simples de las cuatro variedades botánicas en los 110 ecotipos de trigo	152
Tabla 40. Análisis Kruskal-Wallis de 13 descriptores agromorfológicos cualitativos en las 110 acciones de trigo autóctono gallego, agrupadas en cuatro variedades botánicas..	153
Tabla 41. Valores para el estudio de la normalidad de PHL, PROT, SDSS, PMS.....	155
Tabla 42. Estadísticos simples de descriptores de calidad de grano (PHL, PROT, SDSS, PMS)	155
Tabla 43. Estadísticos simples desglosados por factores genotipo y año, de descriptores de calidad de grano PHL, PROT, SDSS, PMS	156
Tabla 44. Medias anuales de descriptores de calidad de grano	162
Tabla 45. Matriz de correlaciones de Pearson y significancia (p-valor), de descriptores PHL, PROT, SDSS, PMS y RDTO	166
Tabla 46. Estadísticos descriptivos de los caracteres cuantitativos y cualitativos en los 110 ecotipos gallegos estudiados.....	168
Tabla 47. Agrupación de los 110 ecotipos de trigo gallegos en 18 grupos obtenidos por sus semejanzas agromorfológicas, medidas con 26 descriptores	173
Tabla 48. Análisis ANOVA de los 18 grupos, para cuatro descriptores de calidad	174
Tabla 49. Análisis ANOVA para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, de 110 acciones de trigo gallego, para ocho descriptores cuantitativos.....	175
Tabla 50. Análisis ANOVA para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, de 110 acciones de trigo gallego, para 14 descriptores cualitativos	176
Tabla 51. Análisis AMOVA para tres loci <i>Glu-1</i> , entre 18 grupos de acciones de trigo gallegos.....	177
Tabla 52. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, desglosado por locus, en 110 acciones de trigo gallego	179
Tabla 53. Test de Mantel entre diferentes tipos de matrices y valores de r	180

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Esquema que representa la localización en los cromosomas 1A, 1B y 1D, de los loci de gluteninas HMW en el trigo hexaploide	9
Figura. Diagrama esquemático de las subunidades de tipo x e y de las HMW-GS	10
Figura 3. Alineamiento de la secuencia de nucleótidos de la región amplificada por el marcador UMN19	15
Figura 4a-4b-5. Subunidades HMW del locus <i>Glu-A1</i>	36
Figura 6a. Subunidades HMW del locus <i>Glu-B1</i>	37
Figuras 6b-7a. Subunidades HMW del locus <i>Glu-B1</i>	38
Figuras 7b-8a-8b. Subunidades HMW del locus <i>Glu-B1</i>	39
Figuras 9a-9b. Subunidades HMW del locus <i>Glu-B1</i>	40
Figura 10a-10b. Subunidades HMW del locus <i>Glu-D1</i>	41
Figura 11a-11b. Subunidades HMW del locus <i>Glu-D1</i>	42
Figura 12a-12b. Subunidades HMW del locus <i>Glu-D1</i>	43
Figura 13. Gel de agarosa de los productos de la PCR amplificados con los marcadores UMN19F y UMN19R <i>Glu-D1</i>	45
Figura 14. Efecto del locus <i>Glu-D1</i> en PHL	48
Figura 15. Efecto de los loci <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> , <i>Glu-D1</i> en SDSS	50
Figura 16. Efecto los loci <i>Glu-A1</i> y <i>Glu-B1</i> en PMS	51
Figura 17. Análisis de varianza molecular (AMOVA) del locus <i>Glu-1</i> , en 199 accesiones de trigo gallego	57
Figura 18. Dendrograma de 199 genotipos de trigo para los loci <i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> y <i>Glu-D1</i> , usando la distancia de Nei y el método aglomerativo UPGMA	62

CAPÍTULO II

Figura 19. Esquema de las variedades botánicas en Galicia	108
Figura 20. Diagrama ombrotérmico de campaña 2011-12	112
Figura 21. Diagrama ombrotérmico de campaña 2012-13	112
Figura 22. Diagrama ombrotérmico de campaña 2013-14	113
Figura 23. Representación de una espiga y gluma de trigo	114
Figura 24. Niveles de forma del pico de la gluma	115
Figura 25. Foto de color de gluma	115
Figura 26. Niveles de vellosidad interna de la gluma	116
Figura 27. Foto de vellosidad externa de la gluma	116
Figura 28. Foto de forma de gluma inferior	117
Figura 29. Niveles de anchura del hombro de la gluma	117
Figura 30. Niveles de forma del hombro de la gluma	118
Figura 31. Foto de color de tallo	120
Figura 32. Niveles de sección del tallo	120
Figura 33. Niveles de hábito de crecimiento	121
Figura 34. Separación de medias de ecotipos según Tukey para PALT	135
Figura 35. Separación de medias de ecotipos según Tukey para ELON	136
Figura 36. Separación de medias de ecotipos según Tukey para EESPN	137
Figura 37. Separación de medias de ecotipos según Tukey para EDEN	138
Figura 38. Separación de medias de ecotipos según Tukey para RDTO	139

Figura 39. Agrupamiento de medias por año de variable PALT	140
Figura 40. Distribución de variable PALT por año	141
Figura 41. Agrupamiento de medias por año de variable ELON	141
Figura 42. Distribución de variable ELON por año.....	142
Figura 43. Agrupamiento de medias por año de variable EESPN.....	142
Figura 44. Distribución de variable EESPN por año	143
Figura 45. Agrupamiento de medias por año de variable EDEN	143
Figura 46. Distribución de variable EDEN por año.....	144
Figura 47. Agrupamiento de medias por año de variable RDTO	144
Figura 48. Distribución de variable RDTO por año	145
Figura 49. Separación de medias de ecotipos según Tukey para PHL	158
Figura 50. Separación de medias de ecotipos según Tukey para PROT.....	159
Figura 51. Separación de medias de ecotipos según Tukey para SDSS	160
Figura 52. Separación de medias de ecotipos según Tukey para PMS.....	161
Figura 53. Agrupamiento de medias por año de variable PHL	162
Figura 54. Distribución de variable PHL por año.....	163
Figura 55. Agrupamiento de medias por año de variable PROT.....	163
Figura 56. Distribución de variable PROT por año	164
Figura 57. Agrupamiento de medias por año de variable SDSS	164
Figura 58. Distribución de variable SDSS por año.....	165
Figura 59. Agrupamiento de medias por año de variable PMS	165
Figura 60. Distribución de variable PMS por año	166
Figura 61. Dendrograma de 110 genotipos de trigo para descriptores cualitativos y cuantitativos, usando la distancia de Gower y el método aglomerativo UPGMA	170
Figura 62. Porcentaje de variación entre 18 grupos para los tres loci del <i>Glu-1</i>	178

INDICE GENERAL

CAPÍTULO I: Caracterización de las gluteninas de alto peso molecular en ecotipos autóctonos gallegos de <i>Triticum aestivum</i> L.....	1
OBJETIVO	3
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. LAS PROTEÍNAS DEL GRANO DE TRIGO.....	7
1.1.1. Clasificación de las proteínas.....	7
1.1.2. Genética y localización cromosómica de HMW-GS.....	9
1.1.3. Nomenclatura de HMW-GS.....	11
1.4. INFLUENCIA DE LAS PROTEÍNAS SOBRE LA CALIDAD PANADERA.....	11
1.5. MARCADORES MOLECULARES PARA LAS GLUTENINAS HMW.....	14
1.6. DIVERSIDAD GENÉTICA.....	16
1.6.1. Variabilidad genética.....	17
1.6.2. Estructuración genética de las poblaciones.....	17
1.6.3. Índices de diversidad.....	19
1.6.4. Agrupación de accesiones.....	19
2. MATERIAL Y MÉTODOS	21
2.1. CARACTERIZACIÓN DE HMW-GS.....	23
2.1.1. Extracción secuencial de las proteínas del endospermo de trigo.....	23
2.1.1.1. Protocolo de extracción de gliadinas.....	23
2.1.1.2. Protocolo de extracción de gluteninas HMW y LMW.....	24
2.1.2. Electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de SDS (SDS-PAGE).....	24
2.2. CARACTERIZACIÓN POR PCR.....	26
2.2.1. Extracción del ADN.....	26
2.2.2. Amplificación en PCR.....	27
2.2.3. Visualización del fragmento amplificado.....	28
2.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	29
2.4. ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA.....	31
3. RESULTADOS	33
3.1. CARACTERIZACIÓN DE SUBUNIDADES DE GLUTENINAS HMW.....	35
3.1.1. Locus <i>Glu-A1</i>	35
3.1.2. Locus <i>Glu-B1</i>	36
3.1.3. Locus <i>Glu-D1</i>	40
3.2. CARACTERIZACIÓN MEDIANTE TÉCNICA PCR.....	45
3.3. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE GRANO SEGÚN LAS HMW-GS.....	46
3.4. EFECTO DE LA VARIACIÓN ALÉLICA DENTRO DE CADA UNO DE LOS LOCI <i>GLU-1</i>	47
3.4.1. Análisis de la varianza.....	47
3.4.2. Análisis de regresión simple.....	51
3.5. ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA.....	54
3.5.1. Variabilidad genética.....	54
3.5.2. Estructura genética de la población.....	55
3.5.3. Análisis clúster y AMOVA.....	59
4. DISCUSIÓN	63
4.1. LOCUS <i>GLU-A1</i>	65
4.1.1. Alelos <i>Glu-A1a</i> (1), <i>Glu-A1b</i> (2*) y <i>Glu-A1c</i> (Nulo).....	65
4.1.2. Alelo <i>Glu-A1y</i> (2••).....	67
4.1.3. Nuevo alelo (2* ^C).....	68
4.2. LOCUS <i>GLU-B1</i>	69

4.2.1. Alelo <i>Glu-B1e</i> (20x+20y) y <i>Glu-B1f</i> (13+16)	69
4.2.2. Nuevos alelos (7*+16 y 7*+18)	70
4.2.3. Alelos <i>Glu-B1at</i> (13+18) y <i>Glu-B1ba</i> (13*+16).....	71
4.2.4. Alelos <i>Glu-B1as</i> (Bx13)	71
4.2.5. Nuevo alelo (13+17).....	72
4.2.6. Alelo <i>Glu-B1bx</i> (7+17).....	72
4.2.7. Nuevo alelo (By20)	72
4.3. LOCUS <i>GLU-D1</i>	73
4.3.1. Alelo <i>Glu-D1a</i> (2+12)	73
4.3.2. Alelo <i>Glu-D1e</i> (2+10)	73
4.3.3. Alelo <i>Glu-D1c</i> (4+12)	74
4.3.4. Alelo <i>Glu-D1h</i> (5+12).....	74
4.3.5. Alelo <i>Glu-D1g</i> (2+12*)	75
4.3.6. Nuevo alelo (2+12**).	75
4.3.7. Alelo <i>Glu-D1k</i> (2)	76
4.3.8. Alelo <i>Glu-D1l</i> (12)	76
4.3.9. Alelo <i>Glu-D1m</i> (10)	76
4.4. CALIDAD PANADERA.....	77
4.5. DIVERSIDAD GENÉTICA	79
5. CONCLUSIONES	83

CAPÍTULO II: Estudio agromorfológico y de calidad de ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L. 87

OBJETIVOS 89

1. INTRODUCCIÓN..... 91

1.1. ORIGEN, EVOLUCIÓN Y TAXONOMÍA DE LOS TRIGOS 93

1.1.1. Origen y evolución de los trigos cultivados..... 93

1.1.2. Taxonomía de los trigos..... 95

1.2. LA IMPORTANCIA DE LAS VARIEDADES TRADICIONALES 97

1.3. LAS CASTAS DE TRIGOS ESPAÑOLAS 99

1.4. LAS VARIEDADES LOCALES EN GALICIA..... 101

1.5. INTRODUCCIÓN DE GERMOPLASMA FORÁNEO 105

1.6. LAS VARIEDADES BOTÁNICAS 107

2. MATERIAL Y MÉTODOS 109

2.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL 111

2.2. CLIMATOLOGÍA 111

2.3. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA 113

2.3.1. Longitud de pico de la gluma inferior (GLONP)..... 114

2.3.2. Forma del pico de la gluma inferior (GFORP) 115

2.3.3. Color de las glumas (GCOL) 115

2.3.4. Vellosoidad interna de la gluma (GIVELL) 116

2.3.5. Vellosoidad externa de la gluma (GEVELL)). 116

2.3.6. Forma de la gluma inferior (GFOR)..... 117

2.3.7. Anchura del hombro de la gluma inferior (GANC) 117

2.3.8. Forma del hombro de la gluma inferior (GFHO)..... 118

2.3.9. Longitud de las barbas (BLON)..... 118

2.3.10. Color de las barbas (BCOL)..... 118

2.3.11. Rugosidad de las barbas (BRUG) 118

2.3.12. Forma del grano (SFOR) 119

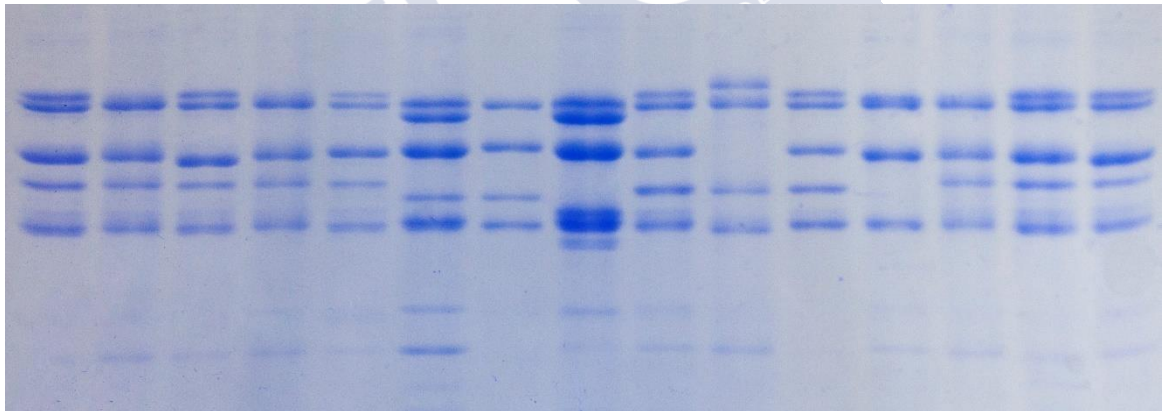
2.3.13. Tamaño del grano (STAM)..... 119

2.3.14. Color del grano (SCOL).....	119
2.3.15. Color del tallo (TCOL)	119
2.3.16. Sección del tallo (TSEC).....	120
2.3.17. Hábito de crecimiento (HCRE)	120
2.4. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DE LAS ACCESIONES	121
2.5. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUANTITATIVA.....	121
2.5.1. Altura de la planta (PALT)	122
2.5.2. Longitud de la espiga (ELON)	122
2.5.3. Número de espiguillas por espiga (EESPN)	123
2.5.4. Densidad de la espiga (EDEN).....	123
2.5.5. Días desde fecha de siembra a fecha de espigado (DESP)	123
2.5.6. Días desde fecha de siembra a fecha de Madurez fisiológica (DMAD).....	123
2.5.7. Encamado (ENC).....	123
2.5.8. Rendimiento (RDTO)	124
2.6. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DE GRANO.....	124
2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	125
2.7.1. Análisis univariante	125
2.7.2. Análisis multivariante	126
3. RESULTADOS	129
3.1. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUANTITATIVA.....	131
3.1.1. Análisis de la varianza (ANOVA).....	131
3.1.2. Separación de medias por accesiones/ecotipos	133
3.1.3. Separación de medias por año	140
3.1.4. Correlación entre descriptores agromorfológicos cuantitativos.....	145
3.2. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA.....	148
3.3. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA.....	150
3.4. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DE GRANO.....	154
3.4.1. Análisis de la varianza (ANOVA).....	154
3.4.2. Separación de medias por accesiones/ecotipos	156
3.4.3. Separación de medias por año	162
3.4.4. Correlación entre parámetros de calidad de grano	166
3.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	167
3.5.1. Análisis Clúster	169
3.5.2. Análisis ANOVA.....	174
3.5.3. Análisis AMOVA.....	177
3.5.4. Distribución espacial mediante el Test de Mantel.....	179
4. DISCUSIÓN	181
4.1. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUANTITATIVA.....	183
4.1.1. Datos cuantitativos	183
4.1.2. Correlaciones entre descriptores cuantitativos	184
4.2. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA.....	184
4.3. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA	186
4.4. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DE GRANO.....	188
4.4.1. Datos de calidad de grano	188
4.4.2. Correlaciones de calidad de grano.....	189
4.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	190
4.5.1. Clúster y dendrograma.....	190
4.5.2. Test de Mantel.....	191
5. CONCLUSIONES	193
6. BIBLIOGRAFÍA	197

7. ANEXOS.....	219
ANEXO 1: Localización de accesiones y equivalencia de numeración en ensayo de campo (nºEny), con numeración del Banco de Germoplasma (nºBG)	225
ANEXO 2: Parámetros variabilidad genética en tres loci (<i>Glu-A1</i> , <i>Glu-B1</i> , <i>Glu-D1</i>) estudiados en 199 ecotipos de trigo gallegos.....	219
ANEXO 3: Tabla de 110 accesiones incluidas en los ensayos de campo (nºEny), con su equivalencia de numeración del Banco de Germoplasma (nºBG).....	230
ANEXO 4. Histograma y gráfico de cuantiles de los parámetros agromorfológicos y de calidad de grano (PALT, ELON, EESPN, DESP, DMAD, EDEN, ENC, RDTO, PHL, PMS, PROT, SDSS) para el estudio de la normalidad de los datos	231
ANEXO 5. Diagramas de dispersión del procedimiento CORR del SAS 9.4., calculados entre cada par de descriptores agromorfológicos cuantitativos (PALT, ELON, EESPN, EDEN, RDTO, DESP, DMAD).....	243
ANEXO 6. Diagramas de dispersión del procedimiento CORR del SAS 9.4., calculados entre cada par de descriptores de calidad de grano (PHL, PMS, PROT, SDSS) y el rendimiento (RDTO).....	248



CAPÍTULO I: Caracterización de las gluteninas de alto peso molecular en ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L.





CAPÍTULO I: Caracterización de las gluteninas de alto peso molecular en ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L.

El primer objetivo de la tesis es realizar una caracterización de la colección de ecotipos gallegos de trigo blando del Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM, mediante el estudio de las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) que posee el endospermo del grano, para así evaluar indirectamente la calidad del gluten de las accesiones. A su vez, dicha caracterización nos servirá para realizar un análisis clúster, agrupando las accesiones en grupos homogéneos, obteniendo un dendrograma donde se podrá conocer la distancia genética entre las accesiones. Se trata de un trabajo de laboratorio sobre el total de las 195 accesiones de trigo blando y cuatro testigos autóctonos.

Las gluteninas son un tipo de proteína que se almacena en el grano, y junto con las gliadinas, son los principales componentes del gluten, que es el que proporciona las características reológicas y panaderas de la harina de trigo. Esta caracterización se llevó a cabo mediante la técnica electroforética SDS-Page, en la cual se separa por bandas los distintos tipos de subunidades de gluteninas HMW, debido a su distinta movilidad en un gel de acrilamida, y que están relacionados directamente con la calidad panadera del trigo (Payne *et al.*, 1979, 1981a, 1987; Payne, 1987; Pogna y Mellini, 1986; Branlard *et al.*, 1992). La variación alélica en HMW-GS ha sido citada como responsable de más del 60% en la variación de la calidad panadera del trigo (Payne *et al.*, 1987).





1. INTRODUCCIÓN



1. 1. LAS PROTEÍNAS DEL GRANO DE TRIGO

1.1.1. Clasificación de las proteínas

El contenido en proteína del grano de trigo puede variar entre un 6 y un 20% (usualmente 8-15%), y constituye el segundo grupo en importancia después de los carbohidratos. Dicho contenido depende del genotipo en menor medida, y de las condiciones de cultivo, entre las cuales la cantidad de fertilización nitrogenada es de vital importancia (Koehler y Wieser, 2013). La mayoría de las proteínas están almacenadas en el endospermo, que es la materia prima de la harina de trigo.

En 1924, Osborne clasificó las proteínas del endospermo del grano en cuatro grupos según su diferente solubilidad:

- Albúminas, solubles en agua
- Globulinas, solubles en soluciones salinas
- Prolaminas (Gliadinas, en trigo), solubles en alcoholes
- Glutelinas (Gluteninas, en trigo), solubles en soluciones ácidas o alcalinas

Sin embargo, posteriormente se evidenció que algunas prolaminas son insolubles en alcohol, a menos que previamente se rompan los puentes disulfuro que estabilizan a la proteína (Shewry, 1996), y se comprobaría que para solubilizar completamente las gluteninas se necesita una mezcla de solventes (alcohol, agente reductor y agente desagregante) (Koehler y Wieser, 2013).

Existe un residuo no solubilizado del endospermo, según las fracciones de Osborne, que son unas proteínas poliméricas llamadas tritricinas, aunque sólo representa un 5% del total de la proteína del grano.

La mayoría de las albúminas y globulinas tienen una función metabólica, y en su mayoría están localizadas en la capa de aleurona, en el germen y en el salvado del trigo, y en baja proporción en el endospermo (Koehler y Wieser, 2013).

La mayoría del contenido proteico del endospermo del trigo lo forman las gliadinas y gluteninas, que son las proteínas de reserva del grano con la función biológica de proporcionar nitrógeno y aminoácidos a la plántula de trigo en su germinación (Koehler y Wieser, 2013). Estas proteínas son las únicas capaces de formar el gluten, debido a las singulares propiedades viscoelásticas que tienen, que les permiten formar una red o

entramado únicas, que les confiere elasticidad y esponjosidad a los panes, una vez fermentados y horneados.

Las proteínas que no forman parte del gluten son las albúminas y globulinas (monoméricas), y las tritricinas (poliméricas), que representan en conjunto un 15-20% del grano de trigo. Las proteínas que forman el gluten son las gliadinas (monoméricas) y gluteninas (poliméricas), representando un 80-85% del grano de trigo.

Debido a la gran importancia comercial de los diferentes productos panaderos derivados del trigo (pan, pan ácimo, pasta, galletas, bizcochos), existen multitud de estudios relacionados con los aspectos bioquímicos y moleculares del gluten, para poder entender el funcionamiento de los distintos componentes que lo forman.

La clasificación de las proteínas de reserva (Shewry *et al.*, 1986; Shewry y Haldford, 2002) se puede separar en tres grupos, basados en su peso molecular y contenido en azufre (S): las proteínas pobres en S (ω -gliadinas, y gluteninas LMW tipo D), las proteínas ricas en S (las α - y γ -gliadinas, y las gluteninas LMW tipo B y C) y las gluteninas de alto peso molecular (HMW). Aunque si se atiende a su tamaño molecular, se pueden separar en gliadinas monoméricas y gluteninas poliméricas (MacRitchie y Lafiandra, 1997), ya que tienen funcionalidades diferentes.

Las gluteninas están entre las proteínas más grandes encontradas en la naturaleza (Wrigley, 1996). Las gluteninas son mezclas de proteínas poliméricas, estabilizadas por medio de puentes disulfuro intracatenarias. Si se rompen estos enlaces con agentes reductores, las subunidades resultantes se pueden clasificar en cuatro grupos, según su movilidad electroforética en SDS-PAGE: el grupo A son subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS), con un rango entre 80.000-120.000 Da; el grupo B son subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (LMW-GS), con un rango entre 42.000-51.000 Da; el grupo C son subunidades de gluteninas de bajo peso molecular (LMW) con un rango entre 30.000-40.000 Da; y el grupo D son subunidades de gluteninas de bajo peso molecular, relacionadas con las ω -gliadinas (Gianibelli *et al.*, 2001).

Las gliadinas son las proteínas monoméricas del gluten, con peso moleculares que varían entre 30.000 y 80.000 Da. Shewry *et al.* (1986), identificaron tres tipos diferentes de gliadinas, denominadas α/β , γ , y ω , que difieren en su estructura y composición de aminoácidos.

En cuanto a la composición de aminoácidos esenciales del grano de trigo, tan sólo existe deficiencia de lisina, aunque la cantidad de otros aminoácidos (histidina,

isoleucina, leucina, cisteína, fenilalanina, tirosina, triptófano y valina) es superior a los niveles recomendados para adultos (Shewry, 2009).

1.1.2. Genética y localización cromosómica de HMW-GS

Las subunidades de gluteninas HMW están codificadas por tres loci complejos, denominados *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, que están situados en los brazos largos de los cromosomas 1A, 1B y 1D, respectivamente (Payne *et al.*, 1982). Cada uno de estos loci contiene dos genes estrechamente ligados que codifican dos subunidades de glutenina, tipo-x y tipo-y (Shewry *et al.*, 1992). Normalmente la subunidad tipo-x tiene menor movilidad en geles SDS-PAGE, que la subunidad tipo-y. En los trigos hexaploides no se codifican las seis subunidades HMW esperadas, poseyendo la mayoría de las variedades de 3 a 5 subunidades debido al “silenciamiento” de alguno de estos genes. El locus *Glu-A1* suele codificar sólo la subunidad tipo-x, y los loci *Glu-B1* y *Glu-D1* codifican 1 o 2 subunidades (Payne *et al.*, 1981b). Aunque se puede producir la sobreexpresión de alguna subunidad, como ocurre con la subunidad Bx7 (Bx7^{OE}) en algunos cultivares y ecotipos de trigos, debido a una duplicación del gen que codifica la subunidad Bx7. Esta explicación fue propuesta por Lukow *et al.* (1992), y confirmada en 316 cultivares y accesiones hexaploides por Ragupathy *et al.* (2008). En estos cultivares, por tanto, aunque se produzcan 5 tipos de subunidades HMW, realmente contienen 6 genes codificantes distintos.

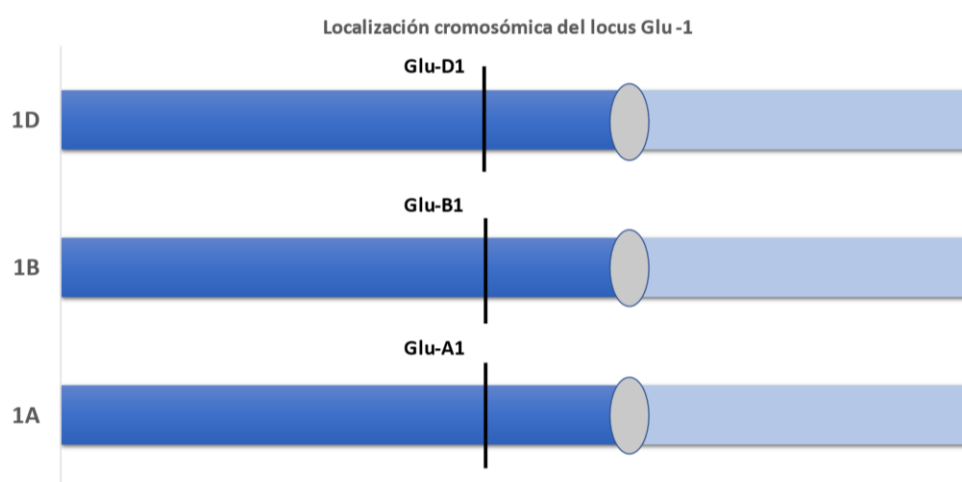


Figura 1. Esquema que representa la localización en los cromosomas 1A, 1B y 1D, de los loci de gluteninas HMW en el trigo hexaploide (basado en el esquema de Payne *et al.* 1987)

La estructura primaria de las gluteninas HMW está formada por un dominio central repetitivo (compuesta de una secuencia de 480 a 700 aminoácidos, rica en prolina, glutamina y glicina), delimitado por dos dominios terminales cortos no repetitivos, denominados N-terminal y C-terminal. Estos últimos, con unas longitudes de 81-104 residuos, y 42 residuos respectivamente (Shewry *et al.*, 1992). Los dos dominios terminales tienen una composición más equilibrada de aminoácidos, mientras que el dominio central está compuesto por secuencias repetidas de aminoácidos (Koehler y Wieser, 2013). La presencia de este dominio con secuencias repetidas es el principal responsable de la inusual composición de aminoácidos y las propiedades de solubilidad del conjunto de la proteína (Shewry *et al.*, 1992).

Los puentes disulfuro que se establecen entre los grupos -S- de residuos de cisteína, juegan un papel fundamental en las propiedades y la estructura de las proteínas de reserva, siendo los responsables de la formación de grandes polímeros de gluteninas (Koehler y Wieser, 2013). Las subunidades HMW tipo-x, excepto 1Dx5, tienen tres residuos de cisteína en el dominio N-terminal, y uno en el dominio C-terminal, y las subunidades HMW tipo-y tienen cinco residuos de cisteína en el dominio N-terminal, uno en el dominio central y uno en el dominio C-terminal (Koehler y Wieser, 2013).

Para poder extraer y estudiar las diferentes subunidades HMW (polipéptidos), primero es necesario reducir los enlaces disulfuro.

En cuanto a su estructura secundaria, el dominio central posee una disposición en β -hélice mientras que la estructura de los dominios terminales (N- y C-) parecen ser más parecidas a proteínas globulares, con α -hélice (Shewry *et al.*, 2001).

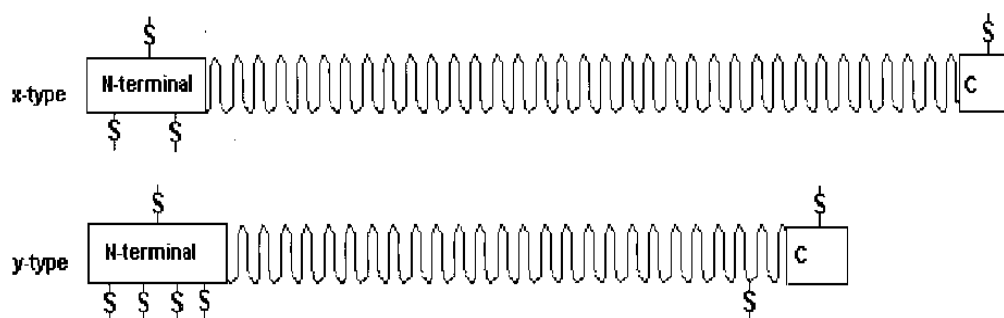


Figura 2. Diagrama esquemático de las subunidades de tipo x e y de las HMW-GS (Gianibelli *et al.*, 2001)

Además de los puentes disulfuro entre cadenas de subunidades de HMW, también se ha demostrado que existen otros puentes entre subunidades HMW y LMW, siendo considerados esenciales en las propiedades viscoelásticas del gluten (Shewry *et al.*, 2001).

1.1.3. Nomenclatura de HMW-GS

Los primeros en asignar una numeración a las subunidades HMW, fueron Payne y Lawrence (1983). Estableciendo no sólo la numeración de las mismas y su localización cromosómica (*Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*), sino también su calidad panadera testada, y el nombre elegido para designar los alelos de los que proceden.

En un principio la numeración atendía a su movilidad en geles SDS-PAGE, asignando los números bajos a menor movilidad (Gianibelli *et al.*, 2001), por lo que la subunidad 12 presenta una movilidad muy superior a la subunidad 1.

Las parejas de subunidades HMW se pueden citar simplemente por su numeración (ej. 5+10), o incluyendo el genoma del que procede y si se trata de una subunidad tipo x o y (ej. Dx5+Dy10).

Actualmente para buscar la designación de nuevos alelos y subunidades encontrados en accesiones o cultivares de trigo, así como información genómica y los artículos científicos de donde procede, se puede acceder a la publicación del “Catalogue of Gene Symbols of Wheat” (McIntosh *et al.*, 2013 y suplementos), que es publicada por un comité de expertos en investigación del trigo (<https://wheat.pw.usda.gov/GG3/wgc>).

1.4. INFLUENCIA DE LAS PROTEÍNAS SOBRE LA CALIDAD HARINO PANADERA

Los primeros en describir la estrecha relación entre la calidad panadera de cultivares de trigo europeos y su composición en las distintas subunidades de gluteninas HMW, fueron Payne y colaboradores, a finales de los 70 del siglo XX. Estudios desarrollados a posteriori, permitieron desarrollar un sistema de puntuación, asignando valores a cada una de las HMW-GS basados sobre todo en la fuerza de gluten (Shewry *et al.*, 2001).

Según los trabajos Branlard y Dardevet (1985), y de Payne *et al.* (1987; 1988), las subunidades de gluteninas HMW serían las responsables de entre el 45 y el 70% de la variación de la calidad panadera de los cultivares de trigo (Shewry *et al.*, 2001), y sin embargo sólo suponen cerca del 12% de las proteínas totales del grano (Shewry *et al.*, 2009). Las gluteninas son las responsables de la fuerza y la elasticidad del gluten,

mientras que las gliadinas proporcionan la extensibilidad y viscosidad necesaria para una buena calidad panadera (Payne *et al.*, 1984; Wieser, 2007). Sin embargo, existen muchos menos estudios sobre las propiedades de las LMW-GS, debido a su mayor complejidad, y alto polimorfismo, y tener menos consistencia los resultados (Langner *et al.*, 2017), a pesar de haber hasta cuatro veces más cantidad de LMW-GS en el grano que HMW-GS, y pudiendo proporcionar aquellas hasta un 30% de las propiedades reológicas del gluten (Cornish *et al.*, 2006).

Gracias a esta calificación de las HMW-GS y debido a la posibilidad de establecer la calidad de una línea o progenie de trigo mediante la técnica SDS-PAGE, ha sido utilizada con éxito en las últimas décadas por mejoradores de trigo. Sin embargo, existen otras proteínas que también intervienen en la calidad del gluten, como son las gluteninas LMW y las gliadinas.

La cantidad de gluten presente en la harina está directamente relacionada con el contenido proteico del grano, afectado por las condiciones agroambientales anuales. Sin embargo, la calidad del gluten depende en mayor medida del genotipo de los cultivares, que determina la composición de gliadinas y gluteninas presentes en cada variedad.

Como en la calidad panadera de los cultivares intervienen, además de las HMW, las LMW-GS y las gliadinas, la mejor manera de evaluar la aportación de cada subunidad de HMW es trabajar con NILs (Near Isogenic Lines), como lo han hecho numerosos estudios (Payne *et al.*, 1987; Redaelli *et al.*, 1997; Tanaka *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2018; Guo *et al.*, 2019). Las NILs son líneas de trigo con la misma composición de proteínas excepto en alguna subunidad.

La secuencia de nucleótidos de cada alelo está relacionada con las propiedades viscoelásticas de los trigos, así como el nivel de expresión de las subunidades de gluteninas HMW (Payne *et al.*, 1987; Gianibelli *et al.*, 2001; Wieser y Kieffer, 2001). La sobreexpresión de alguna subunidad puede proporcionar un incremento en la fuerza panadera, como ocurre con la sobreexpresión de la subunidad Bx7 (Bx7^{OE}) en algunos cultivares y ecotipos de trigos (Butow *et al.*, 2003).

En la tabla 1 se exponen las puntuaciones que les dieron diversos autores a las subunidades basados en sus estudios relacionando las HMW-GS con análisis de calidad panadera (test de sedimentación (SDSS), fuerza panadera (W), tenacidad (P), índice de Zeleny, y otros parámetros reológicos de la masa). La puntuación de Wrigley es la más actual de las cuatro y se basa en los estudios de Payne *et al.* (1987), Cornish *et al.* (2001,

2006); Vawser *et al.* (2002); Eagles *et al.* (2006), y otras publicaciones más recientes (Wrigley *et al.*, 2009).

Tabla 1. Puntuaciones de calidad de gluteninas HMW

Locus	HMW-GS	Payne <i>et al.</i> (1987)	Pogna y Mellini (1986)	Branlard <i>et al.</i> (1992)	Wrigley <i>et al.</i> (2009)
Glu-A1	1	3	3	15	3
	2*	3	5	30	3
	Nula	1	2	0	1
Glu-B1	7	1	2	8	-
	7+8	3	4	18	-
	7 ^{OE} +8	-	-	-	5
	7*+8	-	-	-	2
	7+9	2	5	20	-
	6+8	1	1	2	0
	20x+20y	1	1	2	0
	13+16	3	6	32	3
	17+18	3	6	18	2
Glu-D1	2+12	2	2	7	1
	2.2+12	-	-	-	0
	3+12	2	2	9	0
	4+12	1	1	5	1
	5+10	4	6	30	4

El contenido proteico del grano de trigo es el principal factor que va a determinar su uso final en el mercado, debido a las propiedades que le confiere.

Tabla 2. Tipo de alelos óptimos de HMW-GS según finalidad

Genes	Pan	Pan plano	Galletas
<i>Glu-A1</i>	<i>a, b</i>	<i>a, b</i>	<i>c</i>
<i>Glu-B1</i>	<i>c,f,i,u,al</i>	<i>c,f,i,u</i>	<i>d, e</i>
<i>Glu-D1</i>	<i>d</i>	<i>a</i>	<i>a, c</i>

Aunque la tabla 1 se relacione con la calidad panadera de las harinas, esta calidad dependerá del uso final de la harina, como se puede ver en la tabla 2 (Wrigley *et al.*, 2009), y por tanto dependiendo del uso que se le dé a la harina, serán más apropiados

determinados alelos del locus *Glu-1*. Esto es debido a que los trigos utilizados en la producción de galletas deben tener menor contenido proteico, gluten más débil y un equilibrio P/L más bajo (Gaines, 1991).

1.5. MARCADORES MOLECULARES PARA LAS GLUTENINAS HMW.

En los últimos años, con la publicación de la secuencia genética de varios alelos de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, se ha permitido la detección, por medio de la ampliación en PCR, de subunidades de gluteninas HMW que tienen una movilidad electroforética similar y son difíciles de distinguir con las técnicas clásicas de SDS-PAGE. Existen diferentes marcadores desarrollados por varios autores (Anderson y Green, 1989; Halford *et al.*, 1992; Lafiandra *et al.*, 1997; de Bustos *et al.*, 2000; Ma *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2008; Giraldo *et al.*, 2010) para las subunidades del locus *Glu-A1*, para poder distinguir entre las subunidades Ax1 (alelo *a*), Ax2* (alelo *b*), AxNulo (alelo *c*), y Ax2•• (alelo *f*).

Sin embargo, estos marcadores descritos no reemplazan a la técnica SDS-PAGE para caracterizar las HMW-GS presentes en el endospermo del trigo, ya que se ha demostrado que la delección de 18 bp presente en la secuencia de los alelos Ax2* y Ax2*^B es igual, y en esas mismas regiones la secuencia de los alelos Ax1, AxNulo y Ax2••, es la misma ya que no tienen esa delección, por lo que los productos de la PCR mostrarán unas bandas idénticas (Liu *et al.*, 2008). Es decir, el producto de la PCR no es único para un determinado alelo del locus *Glu-A1*. En la figura 3 se muestra las secuencias de cada alelo y el alineamiento de las mismas.

Los primers (G2F1 y G2R1) creados por Giraldo *et al.* (2010) originan un producto PCR amplificado de 100 bp y 118 bp, mientras que los primers (UMN19F y UMN19R) creados por Liu *et al.* (2008) dan lugar a un producto PCR amplificado de 344 bp y 362 bp. En realidad, están amplificando el mismo polimorfismo, pero con primers y productos de PCR distintos.

Como las subunidades Ax1 y Ax2••, se distinguen bien en los geles de poliacrilamida corridos por la técnica SDS-PAGE, el problema radica en saber si el ecotipo de trigo tiene la subunidad AxNulo o Ax2*, ya que la presencia del alelo *Glu-D1a* (subunidades 2+12), el más común en los trigos gallegos, y de similar movilidad electroforética que la subunidad Ax2*, no permite estar seguro de la presencia de ésta.

		UMN19F
Ax1 X61009	gacgttagcc ccgagtgcca acccgtcggc ggcggcccgg tgcgagaca atatgagcag	
AxNula AF145590	gacgttagcc ccgagtgcca acccgtcggc ggcggcccgg tgcgagaca atatgagcag	
Ax2* M22208	gacgttagcc ccgagtgcca acccgtcggc ggcggcccgg tgcgagaca atatgagcag	
Ax2•• DQ533690	gacgttagcc ccgagtgcca acccgtcggc ggcggcccgg tgcgagaca atatgagcag	
Ax1 X61009	caagtcgtgg tgccgcccga ggggtgatct ttctacccc gcgagaccac gccaccacag	→
AxNula AF145590	caagtcgtgg tgccgcccga ggggtgatct ttctacccc gcgagaccac gccaccacag	
Ax2* M22208	caagtcgtgg tgccgcccga ggggtgatct ttctacccc gcgagaccac gccaccacag	
Ax2•• DQ533690	caagtcgtgg tgccgcccga ggggtgatct ttctacccc gcgagaccac gccaccacag	
Ax1 X61009	caactccaac aaagtatact ttggggaata cctgcactac taagaaggta ttacctaagt	
AxNula AF145590	caactccaac aaagtatact ttggggaata cctgcactac taagaaggta ttacctaagt	
Ax2* M22208	caactccaac aaagtatact ttggggaata cctgcactac taagaaggta ttacctaagt	
Ax2•• DQ533690	caactccaac agagtatact ttggagaata cctgcactac taagaaggca ttacctaagt	
Ax1 X61009	gtaacttctc cgcaacagggt ttcatatctat ccaggccaag cttcttcgca acggccaggga	
AxNula AF145590	gtaacttctc cgcaacagggt ttcatatctat ccaggccaag cttcttcgca acggccaggga	
Ax2* M22208	gtaacttctc cgcaacagggt ttcatatctat ccaggccaag cttcttcgca acggcca---	
Ax2•• DQ533690	gtaacttctc cgcaacagggt ttcatatctat ccaggccaag cttcttcgca acagccaggga	
Ax1 X61009	caaggtcagc agccaggaca aggacaaca gaatactacc taacttctcc gcaacagtca	
AxNula AF145590	caaggtcagc agccaggaca aggacaaca gaatactacc taacttctcc gcaacagtca	
Ax2* M22208	-----ggaca aggacaaca gaatactacc taacttctcc gcaacagtca	
Ax2•• DQ533690	caaggtcagc agccaggaca aggacaaca gaatactacc taacttctcc gcaacagtca	
Ax1 X61009	ggacaatggc aacaaccggg acaagggcaa gcagggtact acccaacttc tccgcagcag	
AxNula AF145590	ggacaatggc aacaaccggg acaagggcaa gcagggtact acccaacttc tccgcagcag	
Ax2* M22208	ggacaatggc aacaaccggg acaagggcaa gcagggtact acccaacttc tccgcagcag	
Ax2•• DQ533690	ggacaatggc aacaaccggg acaagggcaa gcagggtact acccaacttc tccgcagcag	
		UMN19R
Ax1 X61009	tcaggacaag agcaaccagg gtactatcca acttctccat ggcagccaga acaattgcaa	←
AxNula AF145590	tcaggacaag agcaaccagg gtactatcca acttctccat ggcagccaga acaattgcaa	
Ax2* M22208	tcaggacaag agcaaccagg gtactatcca acttctccat ggcagccaga acaattgcaa	
Ax2•• DQ533690	tcaggacaag agcaaccagg gtactatcca acttctccat ggcagccagg acaattgcaa	

Figura 3. Alineamiento de la secuencia de nucleótidos de la región amplificada por el marcador UMN19 (362 nucleótidos), del gen que codifica las subunidades de gluteninas HMW, en el locus *Glu-A1*. Los alelos están a la izquierda de las secuencias, seguidos del número de acceso en el GenBank. Este fragmento corresponde a la región de nucleótidos 421 al 840 de la secuencia X61009, 176 al 595 de la secuencia AF145590, 2533 al 2934 de la secuencia M22208, y 2330 al 2749 de la secuencia DQ533690.

Tabla 3. Marcador UMN19 para las subunidades de gluteninas HMW del locus Glu-A1.

Locus	Marcador	Secuencia (5'-3')	Tamaño amplificado (bp)
Glu-A1	UMN19	UMN19F: CGAGACAATATGAGCAGCAAG UMN19R: CTGCCATGGAGAAGTTGGA	344 (Ax2*) 362 (AxNula, Ax1, Ax2••)

1.6. DIVERSIDAD GENÉTICA

La existencia de variabilidad dentro de las poblaciones de especies vegetales, naturales o cultivadas, y entre poblaciones distintas es una realidad. Esta variabilidad cambia con el tiempo debido a diferentes procesos: mutación, deriva genética, migración o flujo genético, y la selección (Wright, 1931). La variabilidad genética refleja la variedad de alelos y genotipos presentes en una población, o lo que es lo mismo la diversidad en las frecuencias de los genes.

Para medir la diversidad genética en especies vegetales se pueden utilizar marcadores morfológicos (fenotípicos), normalmente influenciados por el ambiente, o marcadores moleculares. Estos últimos se pueden basar en análisis de proteínas (isoenzimas, gliadinas, gluteninas) o análisis de ADN (RFLPs, RAPDs, AFLPs, ISSRs y SSRs). Además, los marcadores escogidos pueden ser haploides o diploides (dependiendo del genoma), y dominantes o codominantes, cuando sólo se puede observar el alelo dominante o si se pueden observar dos alelos en heterocigosis, respectivamente (Collada y Jiménez, 2000).

Los marcadores proteicos son generalmente codominantes, y se pueden utilizar en análisis de poblaciones y relaciones inter- e intrapoblacionales (Collada y Jiménez, 2000). Las aloenzimas tienen la ventaja de que son expresadas codominantemente, por lo que los genotipos homocigos y heterocigos pueden ser distinguidos con mucha precisión. Para un locus dado, el número de bandas varía entre individuos homocigotos y heterocigotos y también varía en función de la estructura cuaternaria de la enzima (Alcántara, 2007). Los estudios genéticos muestran que las gluteninas y gliadinas son marcadores codominantes, ya que los genes que las codifican tienen una herencia mendeliana codominante simple (Payne *et al.*, 1981; Metakovsky *et al.*, 1986; Payne *et al.*, 1987).

Sin embargo, al ser una especie autógama, el proceso de autofecundación hace que normalmente los individuos de una población de trigos sean homocigotos para la mayoría de los loci, al existir muy bajo porcentaje de alogamia (0-5%), por lo que resulta más difícil encontrar individuos heterocigotos. Las poblaciones de plantas autógamas

consisten, generalmente, en una mezcla de líneas homocigotas puras. Además, la proporción de heterocigotos disminuye un 50% cada generación de autofecundación.

1.6.1. Variabilidad Genética

La variación genética o polimorfismo, es la existencia de dos o más formas alélicas en una población. La frecuencia alélica es la base del estudio genético de una población, y se define como el cociente entre el número de alelos iguales en una población entre el número total de alelos.

En el estudio de la variabilidad genética de las poblaciones existen varios estadísticos, que se usan para medir diferentes aspectos.

El número efectivo de alelos es el número de alelos esperados en cada locus de una determinada población (Nielsen *et al.*, 2003).

La riqueza alélica (RA) es el número promedio de alelos por locus, independientemente del tamaño de la muestra, y cuantifica el número total de alelos diferentes detectado en cada uno de los loci de una población.

La heterocigosidad media observada (H_o) (Nei, 1978), es la frecuencia de heterocigotos observados con respecto al número total de individuos muestreados, media de los loci analizados.

La heterocigosidad media esperada de una población (H_e) (Nei, 1978), es la frecuencia de heterocigosis que se esperaría en condiciones bajo equilibrio Hardy-Weinberg, siendo el promedio de heterocigosidad esperada para el conjunto de los loci, el método de medición más adecuado de la variación genética (Nei, 1987).

1.6.2. Estructuración Genética de las Poblaciones

El equilibrio Hardy-Weinberg es aquel alcanzado en las frecuencias alélicas de una población panmíctica, cuando en dicha población no actúan las fuerzas de la mutación, migración, deriva o selección. En dicho equilibrio se cumple que $H_o = H_e$. El exceso o déficit de heterocigotos, supone una desviación del equilibrio. Normalmente en poblaciones subdivididas se detecta una menor heterocigosis observada de la esperada.

A partir de la heterocigosidad media esperada (H_e) de Nei (Nei, 1987; Pons y Petit, 1996), se puede establecer la estructura genética de la población a través de la diversidad genética total (H_T), que se compone de la diversidad intra-poblacional (H_s) y la

diversidad inter-poblacional ($D_{ST} = H_T - H_S$). Siendo la G_{ST} (D_{ST}/H_T) la fracción de diversidad entre ecotipos o coeficiente de diferenciación genética.

La estructura de la diversidad genética en poblaciones subdivididas también se puede evaluar con los valores de los parámetros F_{IT} , F_{IS} y F_{ST} , denominados estadísticos “F” (Wright, 1965; Weir y Cockerham, 1984).

El coeficiente de endogamia (F_{IS}) es una medida del aumento de la endogamia en cada una de las poblaciones. Mide la reducción en la heterocigosidad individual debido a las desviaciones de los cruzamientos al azar. F_{IS} tiene un rango de 1 a -1, siendo los valores positivos indicativo de un defecto en la heterocigosis, y un valor negativo indicativo de un exceso de heterocigotos en la población con respecto a las proporciones esperadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg.

F_{IT} representa el índice de fijación o endogamia de los individuos con respecto a la población total.

F_{ST} es el índice de fijación, que es una medida de la diferenciación entre las poblaciones, teniendo un rango de 0 a 1. El valor 0 indica que no existe diferenciación genética entre las subpoblaciones, es decir, que presentan frecuencias alélicas iguales. Expresa la reducción de la heterocigosidad en una subpoblación debido a los cruzamientos no al azar, con respecto a la población total. Es decir, es una medida de la desviación de la panmixia en el total de la población (Wright, 1951).

F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} se conocen como los F-estadísticos y se relacionan mediante la expresión matemática:

$$(1 - F_{IS})(1 - F_{ST}) = 1 - F_{IT}$$

El “Análisis de Varianza Molecular” (AMOVA) es un método para estimar diferenciación de poblaciones directamente de datos moleculares, en la cual se testan también si se cumplen las hipótesis de dicha diferenciación. En el AMOVA se evalúa la distribución de la diversidad genética dentro y entre grupos de poblaciones, pudiéndose estudiar diferentes niveles jerárquicos (Excoffier *et al.*, 1992).

1.6.3. Índices de diversidad

Otra forma de medir la diversidad en las poblaciones es a través de diversos índices como el índice de Shannon-Wiener, el índice de equitatividad o uniformidad (evenness), y la diversidad genotípica de Nei (Nei, 1987).

El índice de Shannon-Wiener es uno de los índices más usados en estudios de diversidad genética de poblaciones. Cada índice de diversidad puede tener su propio índice “evenness”, que es un indicador de como equitativos están distribuidos los genotipos en la población. Un valor de 1 indica que todos los genotipos tienen la misma frecuencia.

A partir de dichos índices se puede calcular la partición de la diversidad existente, entre diversidad promedio dentro de ecotipos (intrapoblacional) y fracción de diversidad entre ecotipos (interpoblacional).

1.6.4. Agrupación de accesiones

Para visualizar las relaciones entre las accesiones, y su similitud o disimilitud, se calculan las distancias genéticas entre las mismas y se crea una matriz que refleja las distancias entre las poblaciones, como paso previo a un análisis de agrupación jerárquica.

La agrupación realizada se muestra en un dendrograma, que facilita la decisión sobre el número de grupos a formar dentro de la población total, buscando una máxima diferenciación entre distintos grupos y mínima variabilidad intragrupo.

En el caso del uso de marcadores moleculares, para calcular las distancias se suele utilizar la distancia de Nei (1978) y la de Rogers (1972), aunque la más utilizada en el estudio de gluteninas y gliadinas ha sido la primera.





2. MATERIAL Y METODOS



2.1. CARACTERIZACIÓN DE HMW-GS

La caracterización de las subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW-GS) de las 195 accesiones de trigo blando del Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM, se realizó en su mayor parte entre 2011 y 2014, aunque hubo accesiones recolectadas posteriormente.

La técnica utilizada fue la electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE). Para la caracterización de las HMW-GS se emplearon testigos oficiales, y basándose en la nomenclatura del “Catalogue of Gene Symbols of Wheat” (McIntosh *et al.*, 2013 y suplementos).

Se analizaron un promedio de 17 granos por cada accesión, recogidos del material original cedido por los agricultores y almacenado en el Banco de Germoplasma, para observar la heterogeneidad de las accesiones.

La técnica comprende dos pasos diferenciados: extracción secuencial de las proteínas del endospermo del trigo, y uso de la técnica SDS-PAGE para estudiar la distinta movilidad de las gluteninas en dichos geles.

2.1.1. Extracción secuencial de las proteínas del endospermo de trigo

Se siguió el método propuesto por Singh, *et al.* (1991), con ligeras modificaciones. Este método está compuesto de dos fases, en la primera se extraen las gliadinas en solución acuosa de propanol al 50% y en el segundo se extraen las gluteninas de alto y bajo peso molecular (HMW y LMW, respectivamente), mediante la reducción con ditioneitol y el alquilado con 4-vinilpiridina. Previamente se realiza la molienda individual de medio grano (excluyendo el embrión), depositando parte de la misma en un tubo eppendorf (aprox. 20 g de harina molida).

2.1.1.1 Protocolo de extracción de gliadinas

Se añade a cada muestra 1 ml de “Solución A”, y se agita. Las muestras se incuban en estufa a 65 °C durante 30 minutos, con agitación en vortex cada 10 minutos. Se centrifugan a 12.000 rpm durante 5 minutos y se separa el sobrenadante (que contiene las gliadinas). En el tubo con el residuo se añade de nuevo 1 ml de “Solución A”, y se agita, para realizar el lavado de las gliadinas que puedan quedar. Se repite la incubación de las

muestras a 65 °C durante 30 min, con agitación cada 10 minutos y posterior centrifugado a 12.000 rpm durante 5 minutos. Se vuelve a desechar el sobrenadante y añadimos al residuo 0,5 ml de “Solución A”. Se agita, y se centrifuga a 12.000 rpm durante 5 minutos. Por último, se elimina todo el sobrenadante mediante aspiración.

2.1.1.2. Protocolo de extracción de gluteninas HMW y LMW

Sobre el residuo que queda en el tubo eppendorf, se añade 0,1 ml de “Solución B” y un 1% (p/v) de ditioneitol (DTT, agente reductor). Se agita brevemente y se incuba 30 minutos a 65 °C. Después de centrifugar 2 minutos a 12.000 rpm, se añade 0,1ml de “Solución B” y un 1,4% (v/v) de 4-vinilpiridina (agente alquilante), incubando 15 minutos a 65 °C. Se centrifuga 5 minutos a 12.000 rpm. Se recoge 100 µl del sobrenadante y se transfieren a un tubo eppendorf con 100 µl de “Solución C”. Se agita brevemente y se incuba 15 minutos a 65 °C. Teniendo así las muestras listas para insertar en los geles de poliacrilamida.

Las soluciones usadas en la extracción de las proteínas son las siguientes:

1M Tris-HCl pH 8.0: 12,11 g Tris-HCl, H₂O destilada. Se ajusta el pH a 8,0 con HCl concentrado y se enrasa a 100 ml con H₂O destilada.

Solución A: 125 ml 1-Propanol y 125 ml H₂O destilada.

Solución B: 20 ml 1-Propanol, 3,2 ml Tris 1M pH 8,0, y se enrasa a 40 ml con H₂O destilada.

Solución C: 20 g Glicerol, 1 g de SDS, 2 mg de Azul de Bromofenol, 4 ml de Tris pH 8,0 1M, y se enrasa a 50 ml con H₂O destilada.

2.1.2 Electroforesis en geles de poliacrilamida en presencia de dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE)

Para el estudio de las subunidades de gluteninas HMW se utilizó la técnica SDS-PAGE descrita por Payne *et al.* (1980), con algunas modificaciones.

Para realizar la separación de gluteninas de alto peso molecular (HMW) y bajo peso molecular (LMW), se emplearon geles al 12% de poliacrilamida en el gel separador y al 3% en el gel concentrador, en presencia de SDS. Las dimensiones totales de los geles fueron de 8 x 7,5 cm², y 1 mm de espesor. La parte correspondiente al gel de separación

mide 5,5cm de alto, y la de concentración 2 cm de alto, con 15 pocillos de inserción. Antes de insertar las muestras, se lavan los pocillos con tampón cubeta.

Se insertan 10 µl de muestra en cada pocillo y se dejan correr 5 horas, fijando en 150 mA la intensidad de la corriente. Al cabo de las 5 horas, se para la fuente de alimentación y se desmoldan los geles, dejándolos 24 horas en “Solución de Tinción” en agitación constante. Una vez transcurridas 24 horas, se lavan los geles con agua destilada para eliminar el exceso de tinte, cambiando el agua las veces que sea necesario.

Los equipos de electroforesis vertical usados fueron el “Perfect Blue Dual Gel System Twin L” de PeqLab, con una fuente de alimentación “Power Supply EV261” de PeqLab, y la “Mini-PROTEAN Tetra Cell” de Biorad, con una fuente de alimentación “PowerPac Basic” de Biorad.

Las soluciones usadas para la formación de los geles y la electroforesis son las siguientes:

TAMPÓN CUBETA: 15 g Tris sólido, 70,55 g de Glicina y 5 g de SDS, enrasado a 5 litros con agua destilada.

SOLUCIÓN TINCIÓN: 55 g TCA (Ácido Tricloroacético), 25 ml de Solución Tinción (Azul de Coomassie), 65 ml de ácido acético-glacial, 180 ml de etanol puro, y se enrasa a 500 ml con agua destilada.

SOLUCIÓN DE LAVADO: 65 ml de ácido acético-glacial, 180 ml de etanol puro, y se enrasa a 1.000 ml con agua destilada.

PERSULFATO AMONIO 10 %: 0,1 g de SDS y 1 ml H₂O.

SDS 10 %: 1 g SDS y 10 ml H₂O.

SOLUCIÓN AZUL COOMASSIE: 0,25 g Blue g Coomassie y 0,75 g Blue R Coomassie, enrasado a 100 ml con agua destilada.

SOLUCION ACRILAMIDA-BIS: 58,4 ml de Acrilamida 40% y 32 ml de Bis-acrilamida 2%.

Cada gel consta de dos partes diferenciadas, llamadas Gel de Separación y Gel de Concentración. Para el formado de dos geles pequeños (8 x 7,5 cm²), para la cubeta “Mini-PROTEAN Tetra Cell”, se utiliza lo siguiente:

GEL de SEPARACIÓN: 3,75 ml de Solución Acrilamida-Bis, 2,33 ml agua destilada, 3,75 ml Tris pH 8,8, 0,1 ml SDS 10%, 50 µl Persulfato Amónico 10% y 5 µl TEMED.

GEL de CONCENTRACIÓN: 0,735 ml de Solución Acrilamida-Bis, 3,56 ml agua destilada, 0,625 ml Tris pH 6,8, 50 µl SDS 10%, 25 µl Persulfato Amónico 10% y 5 µl TEMED.

La electroforesis se fija a un voltaje de 90 V, por lo que el proceso comienza a 40 mA y va descendiendo hasta 17 mA, con lo que no se llega a recalentar la cubeta y las soluciones que contiene.

2. 2. CARACTERIZACIÓN POR PCR

Además de la caracterización por la técnica SDS-PAGE realizada para todas las accesiones del Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM, para aquellas accesiones en las que no se identificaba claramente en los geles las subunidades Ax2*, AxNula, y Ax2••, se realizó una amplificación en PCR usando como primers UMN19F y UMN19R (Liu *et al.*, 2008), que producen unos fragmentos de 344 y 362 bp. También se probaron los marcadores diseñados por Giraldo *et al.* (2010), pero al ser cadenas más cortas (100 y 118 bp) no se visualizaban tan claras como las anteriores.

Los pasos necesarios para esta técnica constan de la extracción del ADN de las plantas, amplificación en PCR, y visualización del fragmento amplificado en gel de agarosa.

2. 2. 1. Extracción del ADN

Para cada accesión se sembraron 12 semillas en bandejas de alveolos. A las 2 o 3 semanas de la nascencia, se recogió una hoja de cada plántula y se congeló a -20 °C.

La extracción de ADN de las hojas del trigo se realizó con el E.Z.N.A. Plant DNA Kit (Omega Bio-tek), y se siguió el protocolo descrito en el manual. Para evitar la presencia de agua en el molido de las muestras, se procedió a depositar las hojas en un desecador con silica gel 48 horas. Esto facilitó la tarea de molienda posterior, una vez metido el material vegetal en nitrógeno líquido. El residuo obtenido se resuspendió en 50 µl de Elution Buffer, y se guardaron congeladas a -20 °C.

Para conseguir hacer una buena detección de bandas de ADN en geles de agarosa, lo primero es realizar una buena extracción de ADN, consiguiendo una cantidad mínima (ng/µl) de ADN y de una buena calidad. Para ello se realizó la extracción de ADN de tejido de hoja de plántulas jóvenes de trigo. Después se realizó una cuantificación del ADN obtenido, por medio de un NANODROP, obteniendo valores entre 60 y 400 ng/µl. Para medir la pureza del ADN cuantificado, se usó la espectrofotometría, midiendo la

capacidad de absorbancia a una λ determinada de las posibles sustancias contaminantes presentes en una disolución de ADN. En concreto, se consiguieron valores muy cercanos a la pureza óptima, entre 1,8-2,0 y 1,7-2,4, de las relaciones de absorbancias A260/A280 y A260/A230, respectivamente.

2. 2. 2. Amplificación en PCR

Para la amplificación en PCR se usó el protocolo de Liu *et al.* (2008), con ligeras modificaciones para ajustar una buena detección y resolución de las subunidades de gluteninas HMW. El protocolo detallado es el siguiente.

Los reactivos utilizados fueron: ADN Polimerasa (i-Start Taq polimerasa de Intron), cebadores o primers de Invitrogen, marcador de ADN (SiZer™100bp/10Kb DNA Marker de Intron). La mezcla de reactivos para la PCR para un volumen final de 20 μ l, fue la siguiente:

Tabla 4. Reactivos para amplificación en PCR

Reactivo	μ l stock
Buffer 10x (Intron)	2,0
BSA (6 mg/ μ l)	0,2
dNTPs (10 μ M cada uno)	0,4
Forward primer (10 μ M)- UMN19F	1,5
Reverse primer (10 μ M)- UMN19R	1,5
Agua*	12,2
Taq polimerasa (5 U/ μ l)	0,2
DNA template (50 ng/ μ l)	2,0

*se ajusta si cambia alguno de los otros reactivos

Se realiza una máster mix, que contiene todos los reactivos de la reacción menos el ADN, que se añade antes de meter los microtubos en la PCR. La PCR fue realizada en un termociclador Biorad, con las condiciones siguientes:

95 °C- 5 min (desnaturalización inicial - activación de la enzima Taq polimerasa)

94 °C- 30 s (desnaturalización del ADN)
61 °C- 30 s (alineamiento de los *primers*) x 35 ciclos
72 °C- 60 s (extensión)

72 °C- 5 min (extensión final)

4 °C - ∞

En todas las reacciones se introdujeron controles positivos y negativos, para poder comprobar la eficacia de la PCR realizada.

2. 2. 3. Visualización del fragmento amplificado

La técnica utilizada es la electroforesis en gel de agarosa, para poder analizar los productos resultantes de la previa PCR. Estos geles de agarosa se colocan en la cubeta de electroforesis, sumergidos en un tampón de pH alrededor de 8. Las moléculas de ADN sometidas a electroforesis se desplazan al polo positivo, y se testan con los marcadores moleculares cargados en el gel.

Tras la electroforesis, se visualiza el gel con una lámpara de luz ultravioleta, para visualizar las bandas de ADN, gracias al bromuro de etidio añadido.

Los reactivos y el proceso de formado de un gel de agarosa al 2% en TBE, de 40 ml, es el siguiente:

a) 2% Agarose gel (100 ml)

- Pesar 2 g de agarosa y diluirlos en TBE.
- Llevar a ebullición, y retirar del hornillo.
- Añadir el Red Safe según prospecto del producto (5 μ l red Safe / 100 ml de gel).

b) 10X TBE: para 1L

- Diluir 10X TBE (100 ml en 1 L de agua), para obtener concentración 1x.

c) Loading buffer blue 6X

- 30% glicerol (3 ml para 10 ml de solución).
- 0,25% (w/v) azul de bromofenol (25 mg para 10 ml de solución).

El proceso de electroforesis y carga de las muestras de ADN en los geles de agarosa, es el siguiente:

- Se introduce 1 µl de “loading buffer” dentro de cada tubo de la PCR.
- Se homogeneizan bien las muestras y se cargan en los pocillos del gel. El azul de Bromofenol con glicerol proporciona color a las bandas para ayudar a ver el frente, y les da densidad para que no floten.
- Se reservan uno o dos pocillos (depende del tamaño del gel) para cargar el DNA marker (2,5 µl).
- Para cargar las muestras, se coloca el gel de agarosa en el molde dentro de la cubeta con el buffer.
- Una vez cargado todo el gel, se cierra la tapa y se corre a 44 voltios al principio, y cuando las muestras ya hayan penetrado en el gel, se sube a 55 o 68 voltios.

Cuando se acaba de correr el gel de agarosa, se visualiza en el transiluminador bajo la luz ultravioleta.

El tamaño de los fragmentos amplificados (bandas) que aparecen en el gel son de 344 bp (subunidad Ax2*) y 362 bp (subunidades Ax2••, Ax1 y AxNulo). Lo que permite diferenciar las muestras de ADN que tienen la subunidad Ax2*, de las que no lo tienen.

Tabla 5. Tamaño de bandas de alelos *Glu-A1* usando primers UMN19F y UMN19R

Banda (bp)	Alelo <i>Glu-A1</i>	Controles
344	Ax2*	Arthur Nick y Nogal
362	Ax2••, Ax1, AxNulo	Callobre y Caaveiro

2.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de las variaciones alélicas de los distintos loci (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) en los descriptores de calidad del grano (PHL, PROT, SDSS, PMS). Para ello se usó el procedimiento GLM del programa estadístico SAS 9.4., utilizando como efectos los tres loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, el año y bloque del ensayo. Se hizo un modelo para cada uno de los loci por separado, para tener en cuenta tan sólo el efecto de cada alelo dentro de cada locus. El

alelo predominante en cada ecotipo (>70%), fue el utilizado para realizar el análisis, eliminando algunos ecotipos en los que no había dicha predominancia clara.

El siguiente modelo de análisis de varianza (ANOVA) fue utilizado para el locus *Glu-A1* (repetido para el locus *Glu-B1* y *Glu-D1*):

$$X = \mu + \text{Glu-A1} + \text{año} + \text{bloque (año)} + \text{Glu-A1} * \text{año} + \varepsilon$$

donde μ = media general; año = efecto del año; bloque = efecto del bloque o repetición, dentro de cada año; Glu-A1 = alelo predominante del locus *Glu-A1* de cada ecotipo; Glu-A1*año = interacción entre Glu-A1 y año; ε = error residual.

Los factores Glu-A1 y bloque, se consideraron de efectos fijos, y el factor año de efecto aleatorio. Para testar la significación del Glu-A1, se usó la interacción Glu-A1*año como término de error. Por tanto, el efecto del locus *Glu-A1* se testó sobre la interacción Glu-1*año. La separación de medias de cada alelo, dentro de cada locus, se realizó mediante el test de Tukey.

También se utilizó el método de regresión simple para calcular el efecto de la contribución de cada alelo sobre los descriptores de calidad de grano. Para ello se usó el procedimiento REG del programa estadístico SAS 9.4., utilizando un modelo para cada alelo por separado, de acuerdo con la ecuación:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 * \text{Glu1} + \varepsilon$$

siendo Y la variable dependiente (PHL, PROT, SDSS, PMS); Glu1 el alelo de cada locus; β_0 la ordenada en el origen; β_1 la pendiente (efecto del alelo) y ε el error aleatorio.

Una vez estimados el efecto de los alelos, se tomó en cuenta la variabilidad explicada por cada alelo individualmente. En los análisis de regresión, se tomaron los valores promedio de los cuatro bloques y tres años, para los parámetros de calidad PHL, PROT, SDSS y PMS. Se utilizaron las frecuencias observadas para cada alelo en cada ecotipo.

2. 4. ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA

Se analizó la variación genética entre y dentro de poblaciones empleando las frecuencias alélicas obtenidas para los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, en los 199 ecotipos estudiados de la colección de trigos autóctonos gallegos. Se determinó: n° efectivo de alelos y de genotipos, la riqueza alélica, heterocigosidad observada (H_o) y esperada (H_e), índice de diversidad genética de Nei, índice de diversidad de Shannon-Wiener y coeficiente de consanguinidad F_i . También se calculó la equitabilidad (evenness) como un indicador de la uniformidad de distribución de los genotipos dentro de los ecotipos. La estructura genética se estimó mediante el cálculo de los índices F_{ST} , F_{IT} y F_{IS} y se realizó el cálculo de la diversidad genética dentro de ecotipos (H_s), la diversidad genética total (H_t), la diversidad genética entre ecotipos $D_{ST} = H_t - H_s$ y el coeficiente de diferenciación genética G_{ST} para determinar la partición de la diversidad genética. Para dichos cálculos se emplearon los softwares de análisis GenoDive (Meirmans y Tienderen, 2004) y SPAGeDi 1.5 (Hardy y Vekemans, 2002) y FSTAT 2.9.4 (Goudet, 2003).

Para determinar la distribución de la varianza dentro y entre ecotipos usando los datos alélicos se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) que no requiere la suposición de una distribución normal de los datos en el software Arlequin v3.5 (Excoffier et al., 2005).

Empleando el paquete NTSYS-pc 2.1 (Rohlf, 2003), se calcularon las distancias genéticas entre ecotipos mediante la distancia de Nei (Nei, 1978) (módulo SIMGEND) y se obtuvo la matriz de distancias genéticas por el método SAHN (sequential agglomerative hierarchical nested clustering), a partir de la que se construyó el dendrograma de agrupación por el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).





3. RESULTADOS



3.1. CARACTERIZACIÓN DE SUBUNIDADES DE GLUTENINAS HMW

De las 199 accesiones analizadas, tan solo 41 (20,6%) fueron homogéneas en la composición de las HMW-GS. En el resto de las accesiones (79,4%) se encontraron varios perfiles HMW-GS distintos (de dos a siete), aunque el promedio fueron 2,4 perfiles por accesión.

Los loci *Glu-B1* y *Glu-D1* fueron los más polimórficos, con nueve y ocho alelos, respectivamente, mientras que en el locus *Glu-A1* tan sólo se encontraron cinco alelos.

Con la combinación de los 24 alelos encontrados, se detectaron 47 perfiles de subunidades de gluteninas HMW distintos en la colección de trigos autóctonos (tabla 9).

Las frecuencias alélicas fueron calculadas tomando en cuenta el perfil alélico de cada muestra individual dentro de cada accesión, y dividiéndolas entre el número total de muestras analizadas en la colección, independientemente de si las accesiones eran homogéneas o heterogéneas en la composición de HMW-GS.

3.1.1. Locus *Glu-A1*

La tabla 6 muestra las cinco subunidades distintas observadas en la colección de trigos gallegos. Los tres primeros alelos (*a*, *b* y *c*), descritos por Payne y Lawrence (1983) en su catálogo, son los alelos más comunes del locus *Glu-A1* en la mayoría de las colecciones de trigos blandos. El alelo *Glu-A1y* es un alelo menos común, y en este estudio se constata la gran predominancia del mismo en la colección de trigos del CIAM, sobre el resto de los alelos. Adicionalmente, una nueva HMW-GS fue identificada, con una movilidad electroforética ligeramente inferior a la subunidad 2* (figuras 4 y 5). Esta nueva subunidad se le ha designado provisionalmente como 2*^C. Estas dos últimas subunidades, 2•• y 2*^C, aparecen en el 86,7% de las muestras analizadas.

Tabla 6. Frecuencia de las HMW-GS del locus *Glu-A1*, en 199 accesiones de trigo blando

Locus	Alelo	HMW-GS	Frecuencia Alelica %
Glu-A1	<i>Glu-A1a</i>	1	2,77
	<i>Glu-A1b</i>	2*	10,03
	<i>Glu-A1c</i>	Nula	0,44
	<i>Glu-A1y</i>	2••	66,72
	<i>Nuevo</i>	2* ^C	20,04

La frecuencia alélica está calculada sobre el total de granos analizados, no sobre el número de accesiones analizadas.

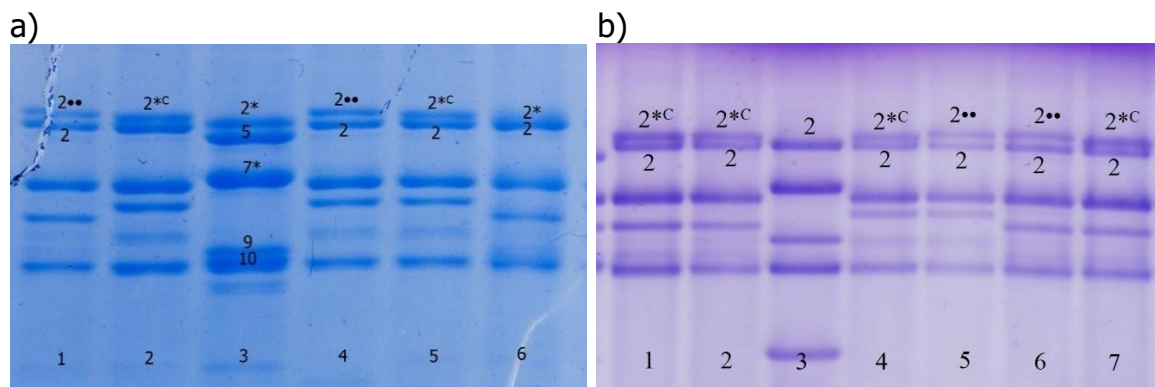


Figura 4. a) Columna 2,4,5: BG-2027 ($2\bullet\bullet/20x+20y/2+12 - 2\bullet^C/20x+20y/2+12$). Columnas 1,3,6: Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$), Bezostaya ($2^*/7^*+9/5+10$), Lancota ($2^*/13+16/2+12$). b) Columnas 1,2,4,5,7: BG-1780 ($2\bullet^C/13+16/2+12$). Columnas 3,6: Chinese Spring ($N/7+8/2+12$), Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$)

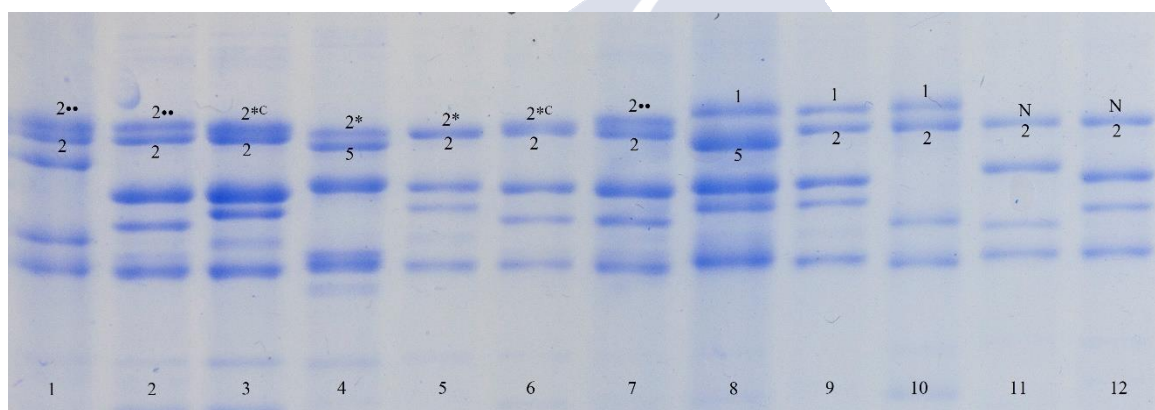


Figura 5. Columna 2,3,5,6,9,12: BG-1961 ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$), BG-1965 ($2\bullet^C/20x+20y/2+12$), BG-1798 ($2^*/20x+20y/2+12$), BG-1819 ($2\bullet^C/13+16/2+12$), BG-1799 ($1/20x+20y/2+12$), BG-2026 ($N/13+16/2+12$). Columnas 1,4,7,8,10,11: Ribeiro ($2\bullet\bullet/6+8/2+12$), Bezostaya ($2^*/7^*+9/5+10$), Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$), Federation ($1/20x+20y/5+10$), Gordejuela ($1/18/2+12^*$), Chinese Spring ($N/7+8/2+12$)

3.1.2. Locus *Glu-B1*

La tabla 7 muestra las 10 subunidades de gluteninas HMW observadas en la colección de trigos gallegos. La frecuencia de los dos alelos más observadas, alelo *Glu-B1f* y *Glu-B1e*, representan más del 95%. El resto de los alelos se consideran muy raros, al estar por debajo del 1% de frecuencia, excepto el alelo que codifica las subunidades 7^*+16 , que se considera raro (<5%).

En las figuras 6 a 9 se muestran todas las subunidades encontradas en los 199 ecotipos gallegos.

Tabla 7. Frecuencia de las HMW-GS del locus *Glu-B1*, en 199 accesiones de trigo blando

Locus	Alelo	HMW-GS	Frecuencia Alelica %
Glu-B1	<i>Glu-B1e</i>	20x+20y	12,78
	<i>Glu-B1f</i>	13+16	83,77
	<i>Glu-B1as</i>	13	0,03
	<i>Glu-B1at</i>	13+18	0,12
	<i>Glu-B1ba</i>	13*+16	0,21
	<i>Glu-B1bx</i>	7+17	0,06
	Nuevo	7*+16	2,21
	Nuevo	7*+18	0,74
	Nuevo	20y	0,06
	Nuevo	13+17	0,03

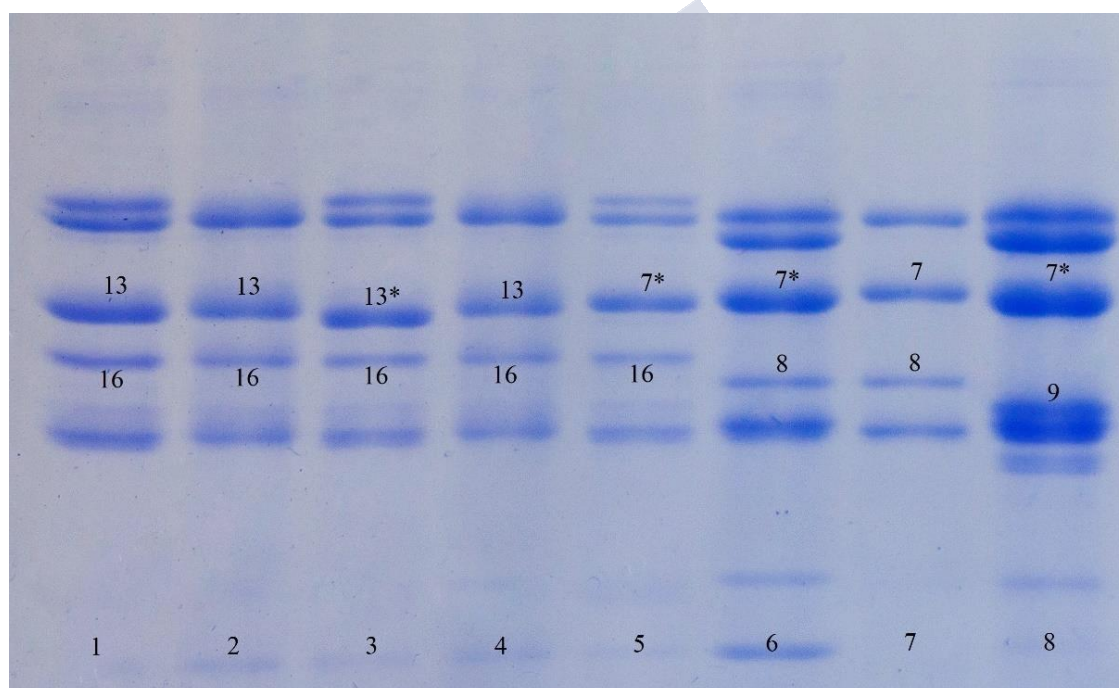


Figura 6a. Columna 3,5: BG-1774 (2••/13*+16/2+12), BG-1919 (2••/7*+16/2+12). Columnas 1,2-4,6, 7,8: Callobre (2••/13+16/2+12), Lancota (2*/13+16/2+12), Nogal (2*/7*+8/5+10), (Chinese Spring (N/7+8/2+12), Bezostaya (2*/7*+9/5+10)

En los ecotipos gallegos en los que se detectaron las combinaciones nuevas 7*+16, 7*+18, 13+17, o la subunidad única By20, ya presentaban bandas en los locus *Glu-A1* y *Glu-D1*, por lo que los nuevos alelos tienen que pertenecer al locus *Glu-B1*.

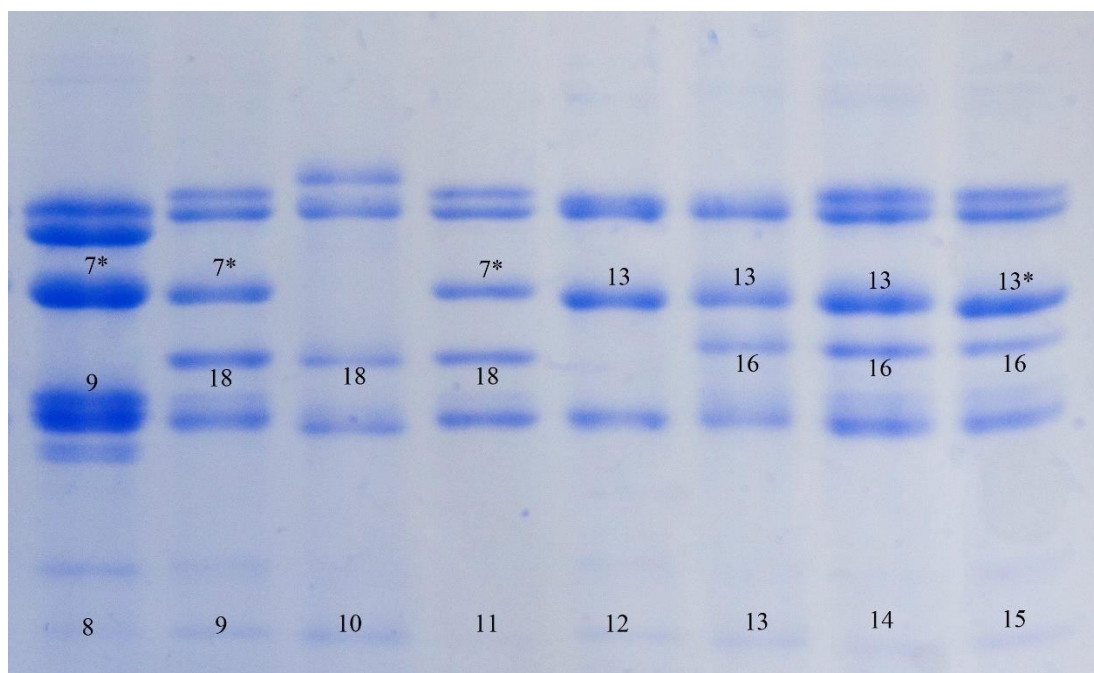


Figura 6b. Columna 9-11,12,15: BG-2005 ($2\bullet\bullet/7^*+18/2+12$), BG-1944 ($2^{*c}/13/2+12$), BG-1774 ($2\bullet\bullet/13^*+16/2+12$). Columnas 8,10,13,14: Bezostaya ($2^*/7^*+9/5+10$), Gordejuela ($1/18/2+12^*$); Lancota ($2^*/13+16/2+12$), Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$)

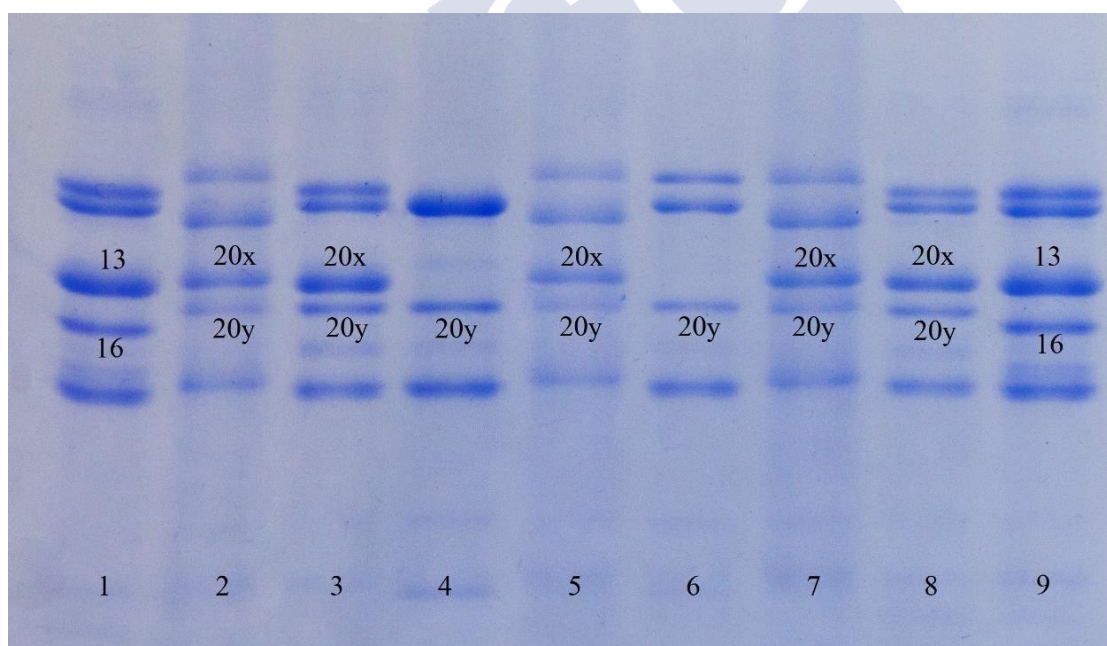
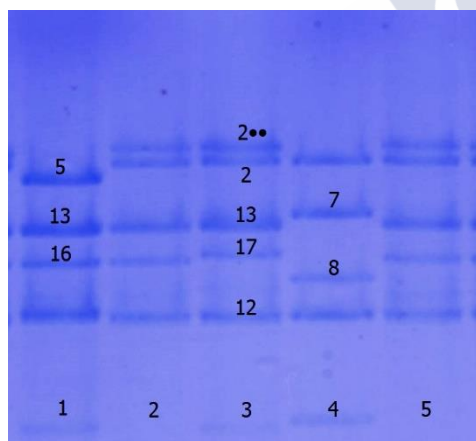


Figura 7a. Columna 3,4,6,8: BG-2027 ($2\bullet\bullet/20x+20y/2+12$), BG-2007 ($2^*/20y/2+12$), BG-2007 ($1/20y/2+12$), BG-1926 ($2\bullet\bullet/20x+20y/2+12$). Columnas 1 y 9: Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$). Columna 2,5,7: Federation ($1/20x+20y/5+10$)



Figura 7b. Columna 3,4,6,8: BG-2027 ($2\bullet\bullet/20x+20y/2+12$), BG-2007 ($2^*/20y/2+12$), BG-2007 ($1/20y/2+12$), BG-1926 ($2\bullet\bullet/20x+20y/2+12$). Columnas 1 y 9: Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$). Columna 2,5,7: Federation ($1/20x+20y/5+10$)

a)



b)

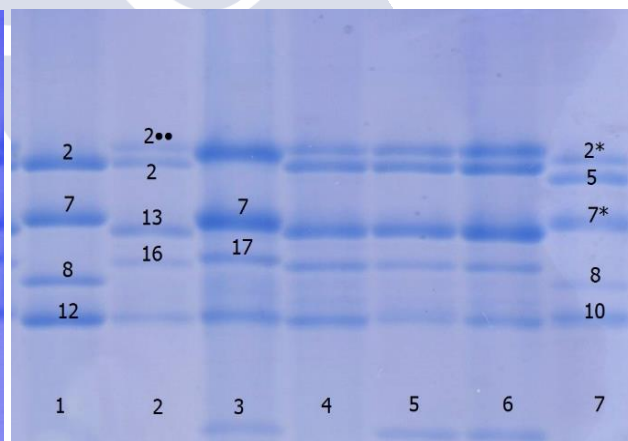


Figura 8. a) Columna 3: BG-1790 ($2\bullet\bullet/13+17/2+12$). Columnas 1,2,4,5: Bokaro ($N/13+16/5+10$), Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$), Chinese Spring ($N/7+8/2+12$), BG-1790 ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$). b) Columna 3: BG-1769 ($2^*/7+17/12$). Columnas 1,2,7: Chinese Spring ($N/7+8/2+12$), Callobre ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$), Soissons ($2^*/7^*+8/5+10$). Columnas 4,5,6: BG-1769 ($2\bullet\bullet/13+16/2+12$).

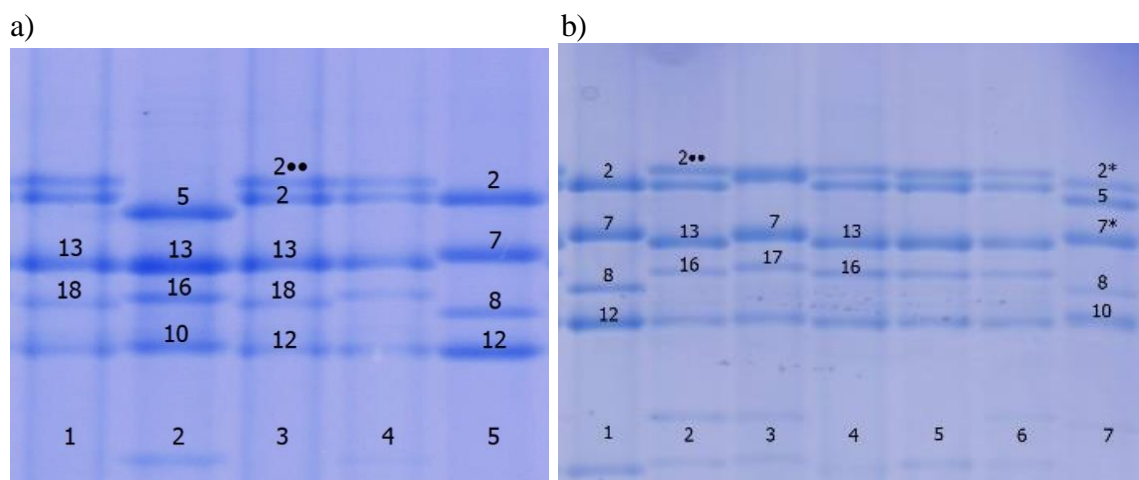


Figura 9. a) Columna 1,3: BG-1786 (2••/13+18/2+12). Columnas 2,4,5: Bokaro (N/13+16/5+10), Callobre (2••/13+16/2+12), Chinese Spring (N/7+8/2+12). b) Columna 2,5,6: BG-1770 (2••/13+16/2+12). Columna 3: BG-1770 (2*/7+17/2+10). Columnas 1,4,7: Chinese Spring (N/7+8/2+12), Callobre (2••/13+16 /2+12), Soisson (2*/7*+8/5+10)

3.1.3. Locus *Glu-D1*

La tabla 8 muestra los nueve pares de HMW-GS observados en la colección de trigos gallegos. La frecuencia del alelo más común, *Glu-D1a*, supera el 91%, y sumándolo con el alelo *Glu-D1e*, representan el 97% del total. El resto de los alelos, excepto el *Glu-D1j*, son muy raros (frecuencia < 1%), y aparecen tan sólo en algunas muestras de uno a seis ecotipos.

Tabla 8. Frecuencia de las HMW-GS del locus *Glu-D1*, en 199 accesiones de trigo blando.

Locus	Alelo	HMW-GS	Frecuencia Alelica %
Glu-D1	<i>Glu-D1a</i>	2+12	91,88
	<i>Glu-D1c</i>	4+12	0,12
	<i>Glu-D1e</i>	2+10	5,40
	<i>Glu-D1h</i>	5+12	0,21
	<i>Glu-D1j</i>	2+12*	1,71
	<i>Glu-D1k</i>	2	0,09
	<i>Glu-D1l</i>	12	0,30
	<i>Glu-D1m</i>	10	0,12
	<i>Nuevo</i>	2+12**	0,18

En las figuras 10 a 13 se muestran todas las subunidades encontradas en los 199 ecotipos gallegos.

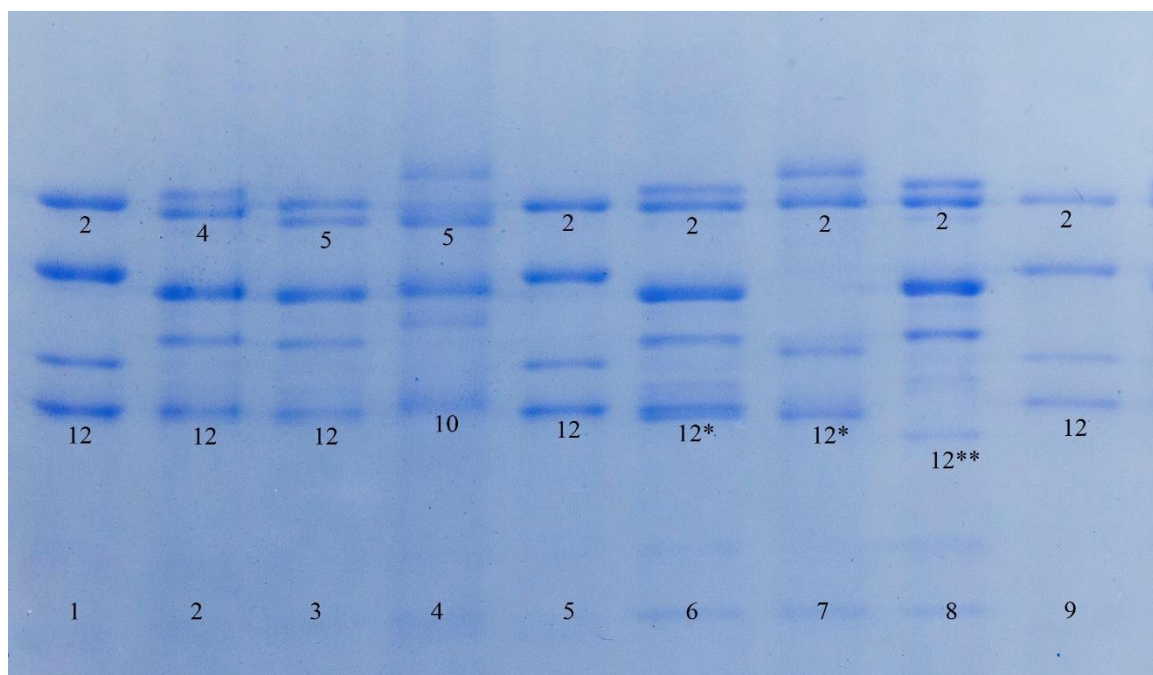


Figura 10a. Columna 2,3,6,8: BG-1916 (2••/13+16/4+12), BG-1925 (2*/13+16/5+12), BG-1786 (2••/13+16/2+12*), BG-1919 (2••/13+16/2+12**). Columna 1,5 y 9: Chinese Spring (N/7+8/2+12). Columna 4, 7: Federation (1/20x+20y/5+10), Gordejuela (1/18/2+12*)

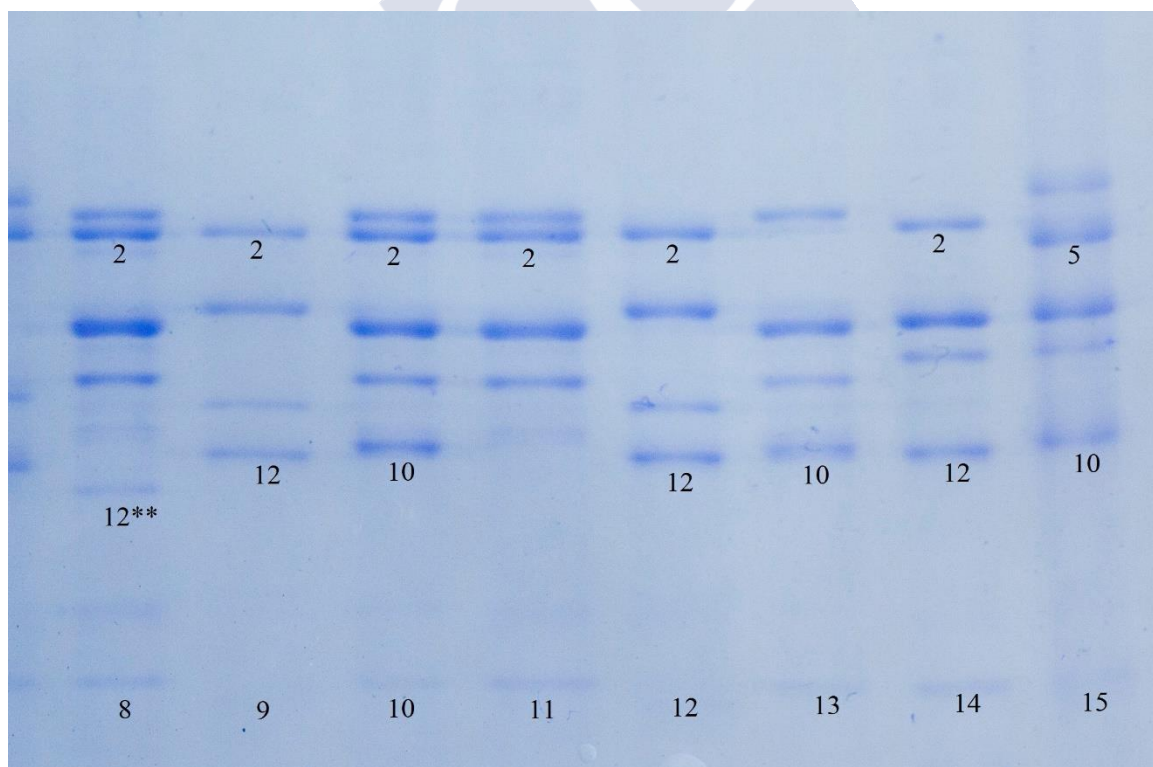


Figura 10b. Columna 8,10,11,13,14: BG-1919 (2••/13+16/2+12**), BG-1769 (2••/13+16/2+10), BG-2001 (2••/13+16/2), BG-1769 (2••/13+16/10), BG-2007 (N/20x+20y/2+12). Columna 9 y 12: Chinese Spring (N/7+8/2+12). Columna 15: Federation (1/20x+20y/5+10)

En la figura 10a, se observan los pares de subunidades 4+12, 5+12, 2+12* y 2+12** (nuevo alelo), y en la foto 10b los pares 2+12**, 2+10, la subunidad única 2 (alelo *Glu-Dlk*), y la subunidad única 10 (alelo *Glu-Dlm*).

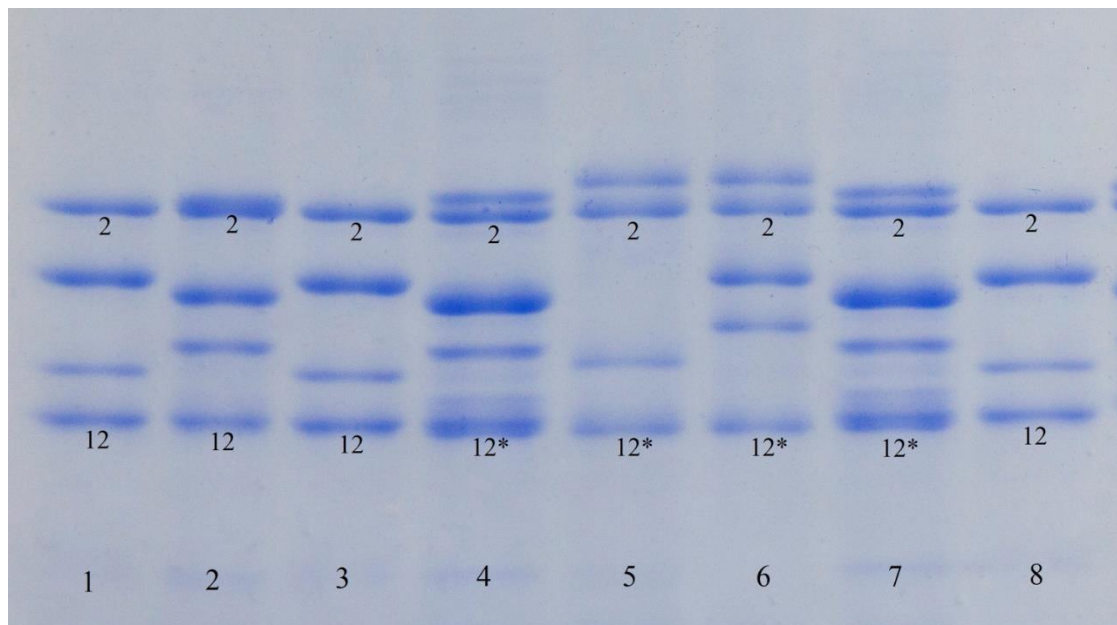


Figura 11a. Columna 2: BG-1990 (2^c/13+16/2+12). Columna 4y7: BG-1786 (2^{*}/13+16/2+12^{*}). Columna 1,3 y 8: Chinese Spring (N/7+8/2+12). Columna 5, 6: Gordejuela (1/18/2+12^{*}), PI191245 (1/34+35/2+12^{*})

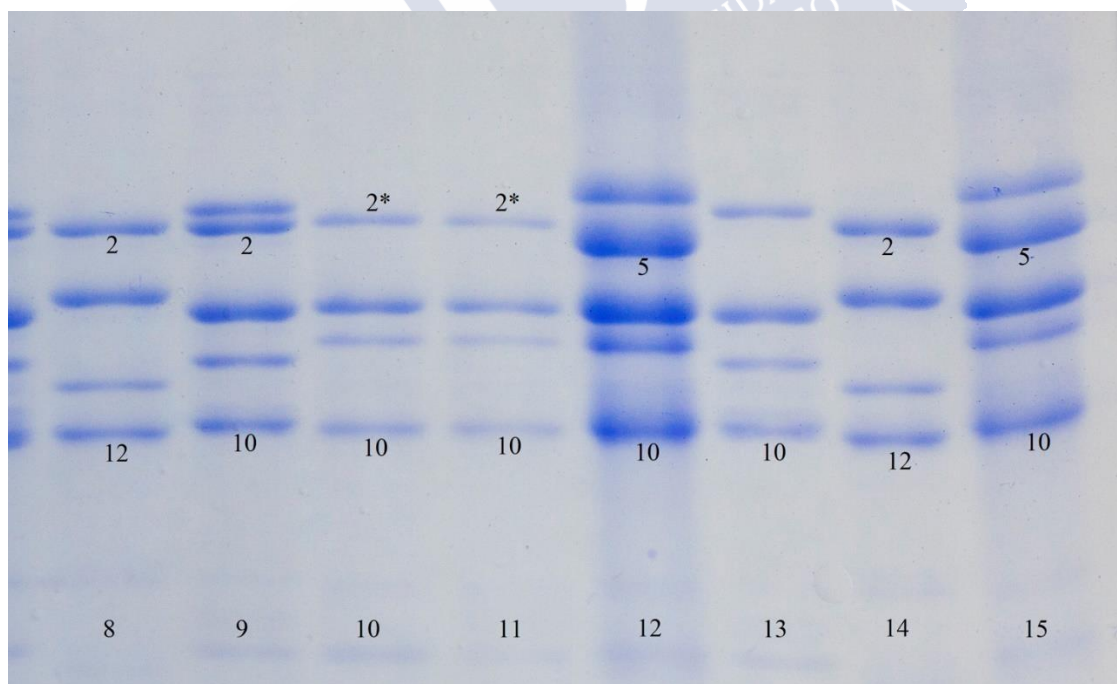


Figura 11b. Columna 9,13: BG-1769 (2^{••}/13+16/2+10), BG-1769 (2^{••}/13+16/10). Columna 10y11: BG-2007 (2^{*}/13+16/10). Columna 8 y 14: Chinese Spring (N/7+8/2+12). Columna 12 y 15: Federation (1/20x+20y/5+10)

En la figura 11a, se observan los pares de subunidades 2+12*, y en la figura 11b, el par de subunidades 2+10, y la subunidad única 10.

En los ecotipos gallegos en los que se detectaron la combinación nueva 2+12**, ya presentaban bandas en los locus *Glu-A1* y *Glu-B1*, por lo que el nuevo alelo tiene que pertenecer al locus *Glu-D1*.

En la figura 12a y 12b se puede observar la subunidad única 12 (alelo *Glu-D1*).

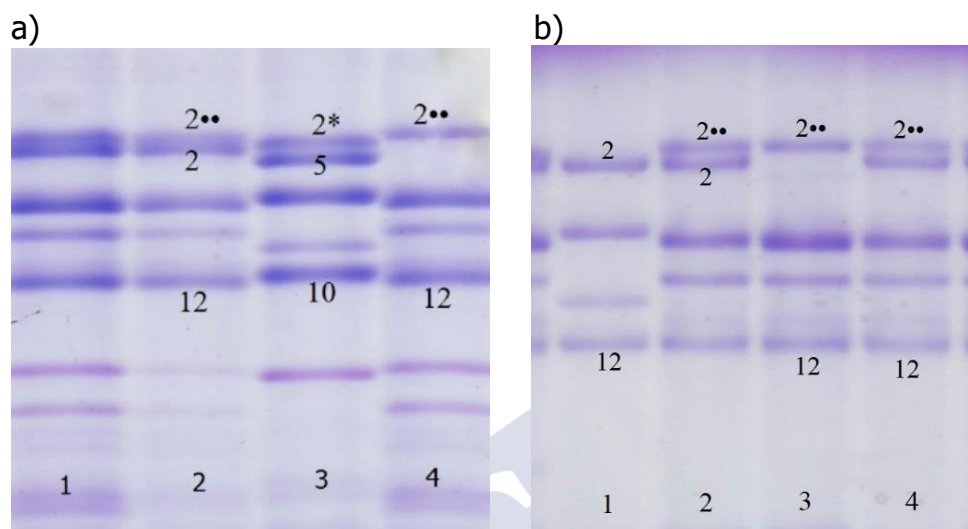


Figura 12. a) Columna 1,4: BG-1924 (2••/13+16/2+12 - 2••/13+16/12), Columnas 2,3: Callobre (2••/13+16/2+12), Soissons (2*/7*+8/5+10). b) Columna 2,3: BG-1761 (2••/13+16/2+12 y 2••/13+16/12). Columnas 1,4: Chinese Spring (N/7+8/2+12), Callobre (2••/13+16/2+12)

La tabla 9 muestra todos los perfiles HMW-GS encontrados en las accesiones gallegas de trigo blando. Los ocho primeros perfiles suponen el 95% de las muestras totales analizadas.

Tabla 9. Frecuencia de los perfiles de HMW-GS de las 199 accesiones de trigo

Perfil	<i>Glu-A1</i>	<i>Glu-B1</i>	<i>Glu-D1</i>	%	HWM-GS
1	2••	13+16	2+12	61,96	2••/13+16/2+12
5	2* ^C	13+16	2+12	16,01	2* ^C /13+16/2+12
2	2••	13+16	2+10	4,67	2••/13+16/2+10
13	2*	20x+20y	2+12	4,45	2*/20x+20y/2+12
3	2*	13+16	2+12	3,23	2*/13+16/2+12
33	2••	7*+16	2+12	2,01	2••/7*+16/2+12
12	2••	20x+20y	2+12	1,53	2••/20x+20y/2+12
20	1	20x+20y	2+12	1,33	1/20x+20y/2+12
37	2••	7*+18	2+12	0,53	2••/7*+18/2+12
16	2*	20x+20y	2+12*	0,50	2*/20x+20y/2+12*
10	N	13+16	2+12	0,44	N/13+16/2+12
7	2••	13+16	2+12*	0,32	2••/13+16/2+12*
14	2* ^C	20x+20y	2+12	0,31	2* ^C /20x+20y/2+12
19	2*	20x+20y	10	0,26	2*/20x+20y/10
21	1	20x+20y	2+12*	0,25	1/20x+20y/2+12*
8	2••	13+16	2+12**	0,18	2••/13+16/2+12**
9	1	13+16	2+12	0,16	1/13+16/2+12
18	2*	20x+20y	12	0,15	2*/20x+20y/12
11	N	13+16	2+10	0,14	N/13+16/2+10
24	2••	13*+16	2+12	0,13	2••/13*+16/2+12
26	2••	13+16	5+12	0,13	2••/13+16/5+12
4	2*	13+16	2+10	0,12	2*/13+16/2+10
35	2••	7*+16	2+10	0,11	2••/7*+16/2+10
15	2*	20x+20y	2+10	0,10	2*/20x+20y/2+10
46	2••	13+16	4+12	0,09	2••/13+16/4+12
28	2••	13+18	2+12	0,08	2••/13+18/2+12
34	2••	7*+16	2+12*	0,08	2••/7*+16/2+12*
44	2••	13+16	12	0,08	2••/13+16/12
47	2••	13+16	2+0	0,06	2••/13+16/2
22	1	20y	2+12	0,05	1/0+20y/2+12
23	2*	20y	2+12	0,05	2*/0+20y/2+12
38	2*	7*+18	2+12	0,05	2*/7*+18/2+12
41	2*	13+16	12	0,05	2*/13+16/12
45	2••	13+16	10	0,05	2••/13+16/10
6	2* ^C	13+16	2+10	0,04	2* ^C /13+16/2+10
29	2* ^C	13+18	2+12	0,04	2* ^C /13+18/2+12
31	2*	7+17	2+10	0,04	2*/7+17/2+10
39	N	7*+18	2+12	0,04	N/7*+18/2+12
25	2••	13*+16	5+12	0,03	2••/13*+16/5+12
30	2••	13+17	2+12	0,03	2••/13+17/2+12
40	2*	7+17	12	0,03	2*/7+17/12
42	2* ^C	13+16	12	0,03	2* ^C /13+16/12
43	2* ^C	13	2+12	0,02	2* ^C /13/2+12
17	2*	20x+20y	4+12	0,02	2*/20x+20y/4+12
27	2*	13+16	5+12	0,02	2*/13+16/5+12
32	N	7*+16	2+12	0,02	N/7*+16/2+12
36	2••	7*+16	2	0,01	2••/7*+16/2

3.2. CARACTERIZACIÓN MEDIANTE TÉCNICA PCR

Del total de las 199 accesiones de trigo blando del Banco de Germoplasma del CIAM, se escogieron 94 de ellas, en las que las subunidades de gluteninas Ax2* (alelo *b*), AxNula (alelo *c*), y Ax2•• (alelo *y*), no se distinguían claramente en los geles de acrilamida en presencia de dodecilsulfato sódico, debido a la proximidad de las subunidades Ax2* y Dx2.

Se extrajo ADN de doce plantas por cada accesión seleccionada. La amplificación realizada con los marcadores UMN19F y UMN19R permitió diferenciar en los geles de agarosa las bandas de 362 y 344 bp (ver figura 13), que discrimina entre las subunidades Ax1 (alelo *a*), AxNula (alelo *c*) y Ax2•• (alelo *y*), y el alelo Ax2* (alelo *b*), respectivamente.

De los 94 ecotipos testados, en 29 (30,8%) de ellos se encontró la presencia de la subunidad Ax2* (alelo *b*) en alguna de las doce muestras analizadas. Esto supone que en el 14,6% de las 199 accesiones, se detectaron muestras con el alelo *Glu-A1b*.

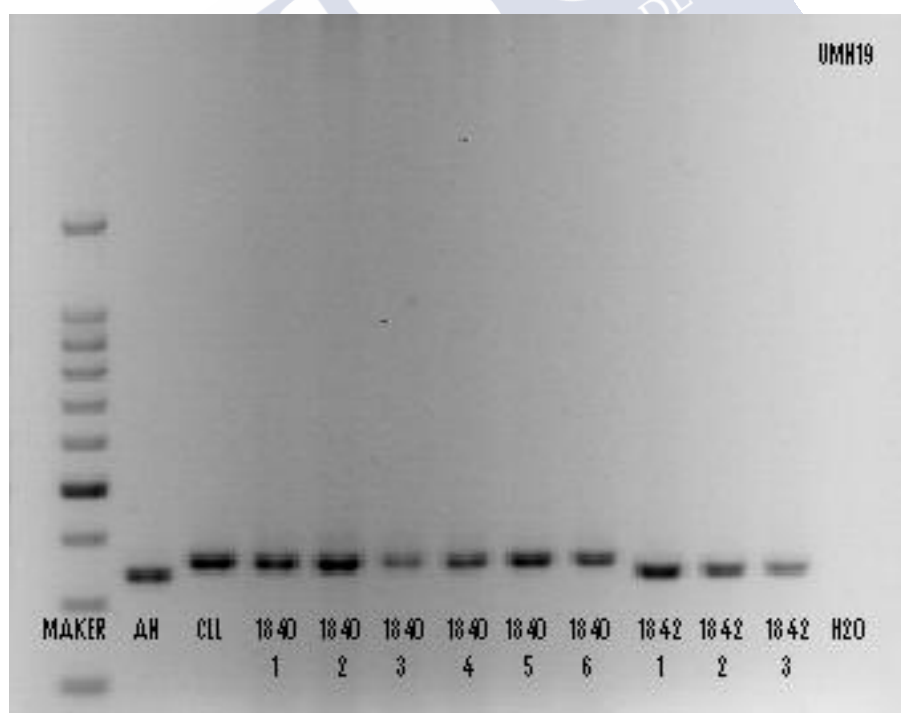


Figura 13. Gel de agarosa de los productos de la PCR amplificados con los marcadores UMN19F y UMN19R. Las columnas (carriles) 2 al 8 (testigo Callobre y ecotipo BG-1840) tienen una banda de 362 bp (subunidad Ax1, AxNula o Ax2••) y la columna 1 (testigo Arthur Nick), y del 9 al 11 (ecotipo BG-1842), tienen una banda de 344 bp (subunidad Ax2*)

A raíz de este estudio mediante la técnica PCR, de los 94 ecotipos testados, se constató la existencia de un alelo nuevo en el *Glu-A1*, que anteriormente designábamos erróneamente como la subunidad Ax2* (*Glu-A1b*), por la dificultad de su clasificación en los geles de poliacrilamida, debido a la proximidad con la subunidad Ax2*, pero que la ausencia de detección de banda 344 bp con los marcadores UMN19F y UMN19R, mostró su existencia.

Esta nueva subunidad, designada como Ax2*^C, tiene una movilidad ligeramente menor a Dx2 y Ax2*, en geles de poliacrilamida por la técnica SDS, aunque habitualmente se le puede confundir con la subunidad Ax2*.

3.3. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE GRANO SEGÚN LAS HMW-GS

Según la valoración de calidad proporcionada por la tabla 1 (epígrafe 1.4), la puntuación que recibirían las accesiones gallegas son las siguientes, sobre un máximo de 10, sin contar con la subunidad 7^{OE}, que es muy rara y no está presente en accesiones españolas.

Tabla 10. Puntuación de los perfiles de HMW-GS de las 199 accesiones de trigo

Composicion HMW-GS	Puntuación
1/13+16/2+12	7
2*/13+16/2+12	7
1/20x+20y/2+12	4
2*/20x+20y/2+12	4
2*/20x+20y/4+12	4
N/13+16/2+12	5

Las puntuaciones de valor 7, indican accesiones con buena calidad panadera. Sobre el resto de los perfiles obtenidos no es posible calcular la calidad según la tabla de puntuación, porque no se dispone de la valoración de alguno de los loci, al tener una composición de HMW-GS que no se ha testado o hay muy poca información. Por lo que, quedarían fuera de la tabla 10 la mayoría de las accesiones gallegas, como son los perfiles: 2••/13+16/2+12, 2*^C/13+16/2+12 y 2••/13+16/2+10, que representan más del 80% de todas las accesiones testadas. Aunque, según los estudios de Giraldo *et al.* (2010) y Gobba *et al.* (2007), el perfil 2••/13+16/2+12 debería tener al menos la puntuación de 7, es decir, buena calidad panadera.

3.4. EFECTO DE LA VARIACIÓN ALÉLICA DENTRO DE CADA UNO DE LOS LOCI *GLU-I*

3.4.1. Análisis de varianza

Se realizaron tres análisis de varianza, uno para cada locus, para ver como la variación alélica de cada locus, afectaba a los valores de los descriptores de calidad, tomados en los 110 ecotipos del ensayo de campo. En el ANOVA realizado, el número de alelos que se comparan se reduce a tres en el locus *Glu-A1* (*A1b*, *A1y*, nuevo (2^{*C})), a tres en el locus *Glu-B1* (*B1e*, *B1f*, nuevo ($7^{*}+16$)), y dos en el locus *Glu-D1* (*D1a* y *D1e*), ya que el resto de los alelos está presente en los ecotipos en una proporción muy baja, y para este análisis sólo asignamos el alelo más predominante ($>70\%$) a cada ecotipo. Cada alelo está representado al menos por tres ecotipos. En el ANOVA del locus *Glu-A1* se eliminaron 20 ecotipos, al no existir una predominancia clara de ningún alelo.

Tabla 11. Efecto de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* en la calidad de grano de 110 accesiones de trigo

Glu-A1	R ²	CV	\bar{X}	$\sigma_e(\sqrt{CM_e})$	GL	F _{model}
PHL	0,73	1,65	80,60	1,33	17	166,40***
PROT	0,36	6,46	14,14	0,91	17	35,72***
SDSS	0,53	15,63	54,63	8,54	17	70,82***
PMS	0,54	7,55	51,29	3,87	17	73,40***

Glu-B1	R ²	CV	\bar{X}	$\sigma_e(\sqrt{CM_e})$	GL	F _{model}
PHL	0,74	1,60	80,54	1,29	17	213,4***
PROT	0,37	6,3	14,10	0,89	17	43,98***
SDSS	0,44	17,27	53,55	9,25	17	58,33***
PMS	0,23	10,4	50,19	5,22	17	22,01***

Glu-D1	R ²	CV	\bar{X}	$\sigma_e(\sqrt{CM_e})$	GL	F _{model}
PHL	0,72	1,67	80,54	1,34	14	232,72***
PROT	0,37	6,29	14,10	0,89	14	53,40***
SDSS	0,44	17,25	53,55	9,24	14	70,97***
PMS	0,11	11,13	50,19	5,59	14	11,65***

R²= coef. determinación del modelo; CV= coef. variación del error experimental ($\sqrt{CM_e} \cdot 100/X$); \bar{X} = promedio; $\sqrt{CM_e}$ = desviación estándar del error experimental; Máx= valor máximo; Mín= valor mínimo; F_{modelo}= valor F del modelo

Los resultados del análisis de varianza (tabla 11) indican que los modelos establecidos explican un bajo porcentaje de la variabilidad encontrada (R²) en los

descriptores PROT y PMS (excepto para *Glu-A1*). Sin embargo, los modelos explican un mayor porcentaje de variabilidad en los descriptores PHL y SDSS.

Los efectos de la variación alélica en los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, sobre los valores del contenido en proteína (PROT) fueron no significativos (tabla 12), mostrándose que la variación debida al efecto año es muy superior a la debida al efecto de los alelos.

Los efectos de la variación alélica para los valores de PHL, también fueron no significativos, excepto en el locus *Glu-D1* (figura 14), en los que la presencia del alelo *D1e* (2+10) afectó significativamente (81,30 kg/hl), comparado con la presencia del alelo *D1a* (2+12) (80,52 kg/hl). Como ocurre en los valores de PROT, la variación en el peso de mil granos debida al efecto año es muy superior a la debida al efecto de los alelos.

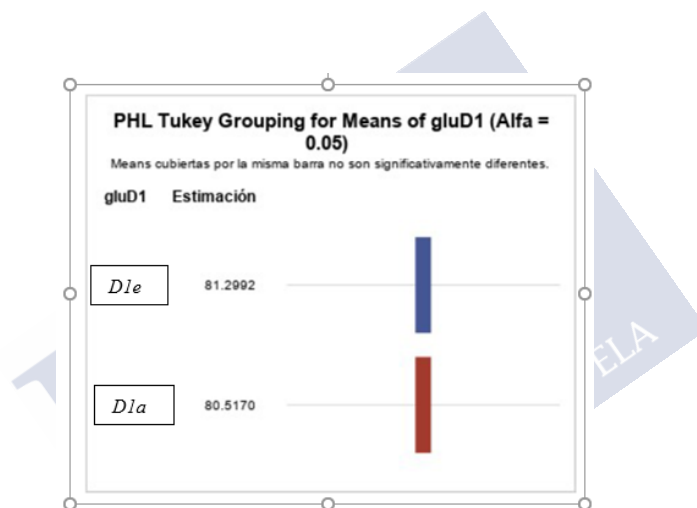


Figura 14. Efecto del locus *Glu-D1* en PHL

Con respecto a los valores de SDSS (tabla 12), se detectó un efecto significativo de la variación alélica de los tres loci sobre aquellos. En el locus *Glu-A1* (figura 15), según la separación de medias realizada mediante el test de Tukey, se mostró un efecto positivo por la presencia del alelo *A1y* (2**), en comparación con el nuevo alelo (2^{*C}). Pero no se detectaron diferencias significativas entre la presencia del alelo *A1b* (2*) y el alelo *A1y* (2**). En el locus *Glu-B1* (figura 15), se mostró un efecto significativo por la presencia del nuevo alelo (7^{*+16}), en comparación al alelo *B1e* (20x+20y). Pero no se mostraron diferencias significativas entre los alelos *B1e* (20x+20y) y *B1f* (13+16), ni entre el alelo *B1f* (13+16) y nuevo alelo (7^{*+16}). En el locus *Glu-D1* (figura 15), se mostró un efecto significativo por la presencia del alelo *D1e* (2+10), en comparación al alelo *D1a* (2+12).

En cuanto a la variación existente en los valores de SDSS, parámetro más importante para definir la calidad panadera, se constata en la tabla 12 que el efecto año ($\sigma_{\text{año}}$), al

menos duplica el efecto de los loci *Glu-B1* y *Glu-D1* ($\sigma_{GluB1/D1}$), pero en el locus *Glu-A1* el efecto año casi se iguala al efecto producido por los distintos alelos. Ello indica el mayor peso que tiene la variación alélica del locus *Glu-A1* en el conjunto de los tres loci, sobre el descriptor SDSS, en las accesiones de trigo de la colección gallega.

Tabla 12. Efecto de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* en la calidad de grano de 110 accesiones de trigo, desglosado por factores

Descriptores	CV _{GluA1}	σ_{GluA1} ($\sqrt{CM_{GluA1}}$)	CV _{año}	$\sigma_{año}$ ($\sqrt{CM_{año}}$)	F _{GluA1}	F _{año}	F _{GluA1*año}
PHL	10,90	8,78	33,43	26,95	3,80 NS	412,05***	11,53***
PROT	4,76	0,67	53,13	7,51	0,19 NS	67,60***	2,89*
SDSS	140,73	76,88	171,30	93,58	33,25**	120,11***	2,44*
PMS	162,33	83,26	21,77	11,17	82,93***	8,31***	5,57***

Descriptores	CV _{GluB1}	σ_{GluB1} ($\sqrt{CM_{GluB1}}$)	CV _{año}	$\sigma_{año}$ ($\sqrt{CM_{año}}$)	F _{GluB1}	F _{año}	F _{GluB1*año}
PHL	10,31	8,31	27,79	22,38	4,05 NS	299,98***	10,21***
PROT	11,38	1,61	50,41	7,11	1,04 NS	64,01***	3,13*
SDSS	54,25	29,05	154,80	82,90	11,15*	80,34***	0,89 NS
PMS	104,34	52,37	23,76	11,92	66,96***	5,21**	1,50 NS

Descriptores	CV _{GluD1}	σ_{GluD1} ($\sqrt{CM_{GluD1}}$)	CV _{año}	$\sigma_{año}$ ($\sqrt{CM_{año}}$)	F _{GluD1}	F _{año}	F _{GluD1*año}
PHL	6,60	5,32	25,09	20,21	914,14**	226,39***	0,02 NS
PROT	19,20	2,71	44,74	6,31	2,15 NS	50,51***	4,32*
SDSS	81,38	43,58	151,64	81,20	52,94*	77,26***	0,42 NS
PMS	43,02	21,59	43,70	21,93	13,90 NS	15,41***	1,08 NS

CV_{GluA1(año)} = coef. variación debida al locus (año) ($\sqrt{CM_{GluA1(año)}} * 100/\bar{X}$); \bar{X} = media; $\sigma_{GluA1(año)}$ = desviación típica debido al locus (año); F_{año} = F del factor año; F_{GluA1} = F del factor locus; F_{GluA1*año} = F del factor locus*año

Con respecto a los valores de PMS (tabla 12), se mostró un efecto significativo de la variación alélica del locus *Glu-A1* y del locus *Glu-B1*, sobre aquellos. La variación existente en el locus *Glu-D1* no ejerció ningún efecto significativo sobre los valores de PMS. En el locus *Glu-A1* (figura 16), se mostró un efecto positivo significativo (52,81 g) por la presencia del alelo *A1y* (2**), en comparación con el nuevo alelo (2^{*C}) (44,92 g) y el alelo *A1b* (2*) (38,44 g). También se detectó un efecto positivo significativo por la presencia del alelo nuevo (2^{*C}), en comparación con alelo *A1b* (2*). Sin embargo, con respecto al alelo *A1b* (2*), representado por tres ecotipos con un espigado muy precoz y alto encamado, la formación del grano, y por tanto su PMS, puede haber sido influenciado en gran medida por estas características, y que por tanto se mal interprete el

efecto negativo detectado asociado a este alelo. En el locus *Glu-B1* (figura 16), se mostró un efecto positivo significativo en los valores de PMS por la presencia del nuevo alelo (7*+16) (53,27 g), y del alelo *BIf* (13+16) (50,41 g), en comparación con el alelo *Ble* (20x+20y) (38,44 g). Sin embargo, con respecto al alelo *Ble* (20x+20y), representado por tres ecotipos con un espigado muy precoz y alto encamado, la formación del grano y por tanto su PMS, puede haber sido afectado por dichos hechos, y que por tanto el efecto negativo detectado asociado a este alelo no sea real. En el locus *Glu-D1* (figura 16), se detectó un efecto positivo significativo (53,25 g) por la presencia del alelo *Dle* (2+10), en comparación con el alelo *Dla* (2+12) (50,07 g).

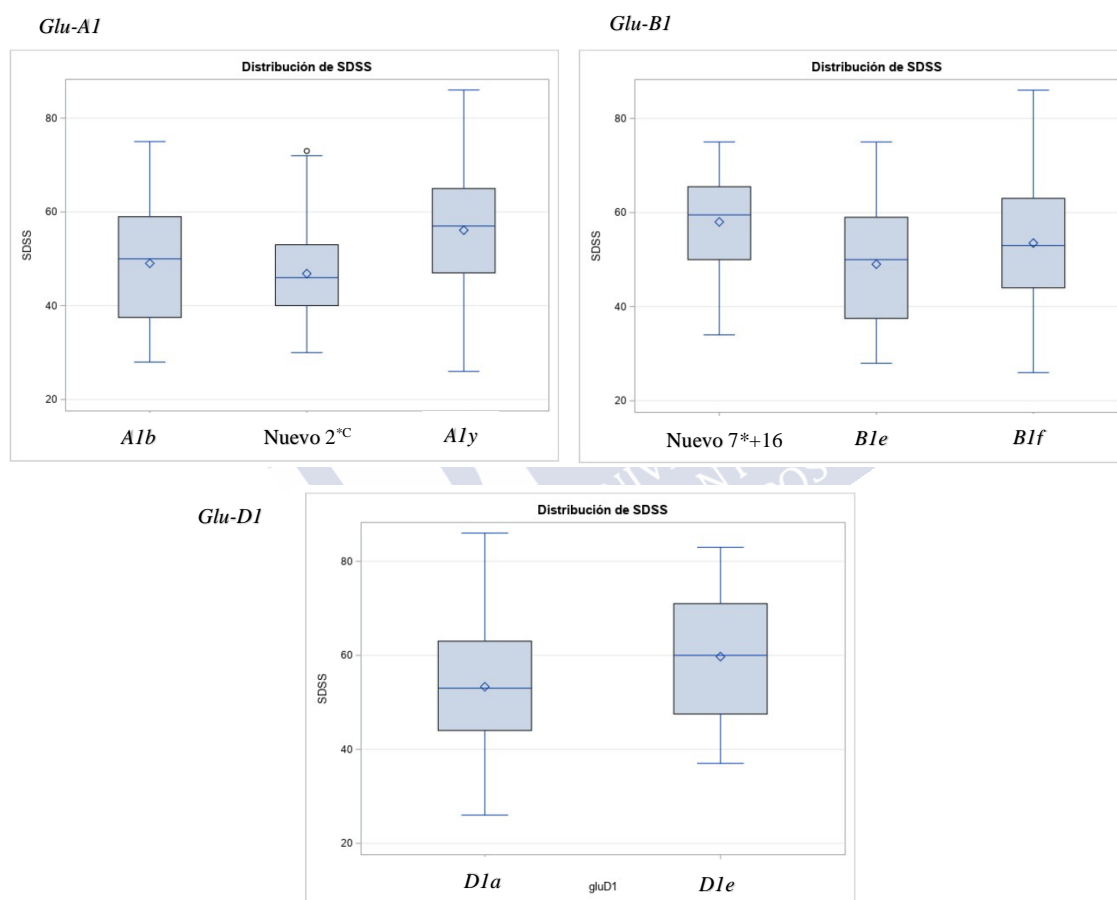


Figura 15. Efecto de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* en SDSS

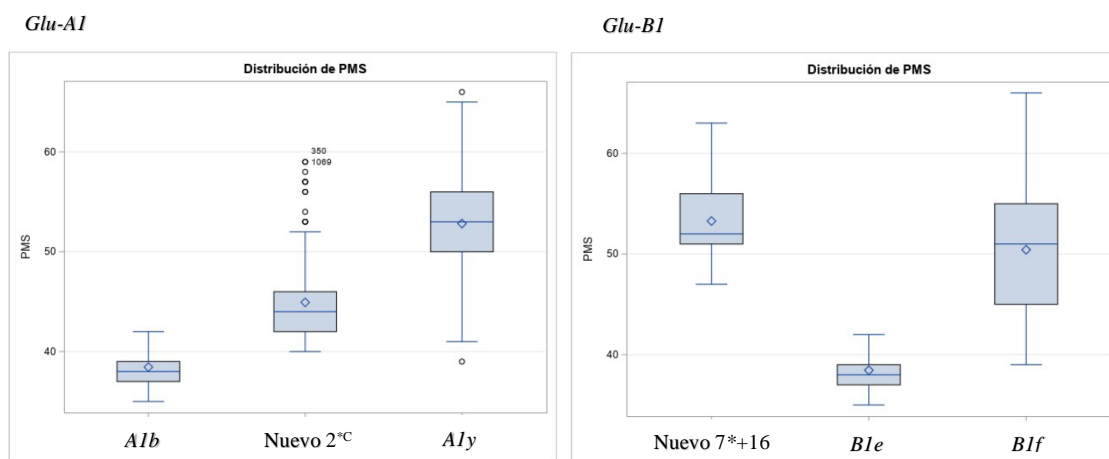


Figura 16. Efecto de los loci *Glu-A1* y *Glu-B1* en PMS

La interacción locus x año tan sólo fue significativa (tabla 12) para PROT en los tres años. Para los parámetros PHL, SDSS y PMS, dicha interacción sólo fue significativa para el locus *Glu-A1*.

Como resumen, se constató que la variación alélica de cada locus no afectó al porcentaje de proteína del grano, sino tan sólo a la calidad de esta, medida por el test de sedimentación.

3.4.2. Análisis de regresión simple

También se analizó por el método del análisis de regresión simple, el porcentaje de contribución de cada alelo a los descriptores de calidad de grano, calculando la aportación por separado de cada alelo de cada uno de los loci. Todos los alelos infrarepresentados en la colección, con frecuencias alélicas por debajo del 1% no tuvieron efectos significativos sobre ninguno de los descriptores de calidad PHL, PROT, SDSS y PMS. Además, por el bajo número de observaciones de dichos alelos (<15), no serían fiables las conclusiones de la regresión en caso de que se calculase algún efecto significativo.

Con respecto a PHL, en la tabla 13 se detallan los alelos que tuvieron un efecto significativo sobre los valores del peso hectolítrico. El resto de los alelos tuvieron un tamaño de efecto, estimado por R^2 , por debajo de 0,025, y un valor de F no significativo. Entre los alelos del locus *Glu-A1*, todos tienen un efecto significativo en los valores de PHL, excepto el alelo *A1c* (Nulo). Siendo dichos efectos negativos en los alelos *A1a* (1), *A1b* (2*) y alelo nuevo (2°C), y positivo en el alelo *A1y* (2••). Entre los alelos del locus *Glu-B1*, los alelos *B1e* (20x+20y) y *B1f* (13+16), tuvieron un efecto significativo en los

valores de PHL. El primero tiene un efecto negativo, y el segundo un efecto positivo sobre los valores de PHL. Entre los alelos del locus *Glu-D1*, se detectó un efecto positivo significativo del alelo *D1e* (2+10), y un efecto negativo significativo del alelo *D1j* (2+12*).

Tabla 13. Efecto de los tres loci *Glu-1* en PHL, por regresión

Alelos	HMW-GS	R ²	CV	$\sigma_e (\sqrt{CM_e})$	Estim. Parámetro	F _{model}
alelo <i>A1a</i>	1	0,117	1,02	0,82	-8,99	14,34***
alelo <i>A1b</i>	2*	0,117	1,02	0,82	-1,99	14,26***
alelo <i>A1y</i>	2••	0,148	1,00	0,81	1,00	18,78***
alelo nuevo	2* ^C	0,052	1,06	0,85	-0,64	5,9*
alelo <i>B1e</i>	20x+20y	0,146	1	0,81	-1,95	18,52***
alelo <i>B1f</i>	13+16	0,124	1,02	0,82	1,64	15,23***
alelo <i>D1e</i>	2+10	0,040	1,06	0,86	1,04	4,53*
alelo <i>D1j</i>	2+12*	0,086	1,04	0,84	-10,01	10,15**

Con respecto al descriptor PROT, ninguno de los alelos de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*, mostraron efectos significativos sobre los valores del contenido en proteína del grano. Todos los alelos tuvieron un R² por debajo de 0,030. Esto coincide con el análisis ANOVA.

Con respecto al descriptor SDSS, en la tabla 14 se detallan los alelos que tuvieron un efecto significativo sobre los valores del volumen de sedimentación. El resto de los alelos tuvieron un R² por debajo de 0,020, y un valor de F no significativo. Los coeficientes de determinación R² más altos correspondieron a los alelos *A1y* (2••) y el alelo nuevo (2*^C), con un porcentaje de variación fenotípica explicada por el modelo respecto de la variabilidad total observada, de 0,25 y 0,22, respectivamente. Entre los alelos del locus *Glu-A1*, los únicos que tuvieron un efecto significativo en los valores de SDSS, fueron el alelo *A1y* (2••) y el alelo nuevo (2*^C), teniendo efectos positivos el primero, y negativos el segundo. Los alelos de los loci *Glu-B1* y *Glu-D1*, no mostraron un efecto significativo en los valores de SDSS, a diferencia de lo que mostraba el análisis ANOVA.

Tabla 14. Efecto de los tres loci *Glu-1* en SDSS, por regresión

Alelos	HMW-GS	R ²	CV	$\sigma_e (\sqrt{CM_e})$	Estim. Parámetro	F _{model}
alelo <i>A1y</i>	2••	0,250	12,04	6,44	11,09	36,03***
alelo nuevo	2* ^C	0,219	12,29	6,58	-11,18	30,33***

Con respecto al descriptor PMS, en la tabla 15 se muestran los alelos que tuvieron un efecto significativo sobre los valores del peso de mil granos. El resto de los alelos tuvieron un R^2 por debajo de 0,050, y un valor de F no significativo. Los coeficientes de determinación R^2 más altos correspondieron a los alelos *Al*y (2••) y el alelo nuevo (2*^C), con un porcentaje de variación fenotípica explicada por el modelo respecto de la variabilidad total observada, de 0,71 y 0,46, respectivamente. Entre los alelos del locus *Glu-A1*, todos los alelos tienen un efecto significativo en los valores de PMS (excepto el alelo Nulo). Siendo dichos efectos negativos en los alelos *A1a* (1) y el alelo nuevo (2*^C), y positivo en el alelo *A1b* (2*) y el alelo *Al*y (2••). Entre los alelos del locus *Glu-B1*, sólo los alelos *B1e* (20x+20y) y *B1f* (13+16), tienen efecto significativo en los valores de PMS. El efecto que produce el alelo *B1e* es negativo, y el que produce el alelo *B1f* es positivo.

Tabla 15. Efecto de los tres loci *Glu-1* en PMS, por regresión

Alelos	HMW-GS	R^2	CV	σ_e ($\sqrt{CM_e}$)	Estim. Parámetro	F_{modelo}
alelo <i>A1a</i>	1	0,097	9,32	4,67	-45,88	11,58***
alelo <i>A1b</i>	2*	0,171	8,93	4,48	8,93	22,33***
alelo <i>Al</i> y	2••	0,710	5,28	2,65	12,35	264,17***
alelo nuevo	2* ^C	0,476	7,10	3,56	-10,89	98,21***
alelo <i>B1e</i>	20x+20y	0,108	9,26	4,65	-9,38	13,03***
alelo <i>B1f</i>	13+16	0,066	9,47	4,75	6,74	7,69**

R^2 = coef. determinación del modelo; CV= coef. variación del error experimental ($\sqrt{CM_e} \cdot 100/X$); $\sqrt{CM_e}$ = desviación estándar del error experimental; F_{modelo} = valor F del modelo

Como resumen del análisis de regresión, se constató que los alelos *Al*y (2••) y el alelo nuevo (2*^C), son los que tuvieron mayores efectos sobre los valores de los descriptores de calidad SDSS y PMS. Mientras que en el descriptor PHL, los mayores efectos los produjeron los alelos *Al*y (2••), *B1e* (20x+20y), *B1f* (13+16), *A1a* (1) y *A1b* (2*). Sobre los valores del contenido proteico (PROT), no se detectó ningún efecto significativo de los alelos sobre los mismos.

3.5. ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA

Los marcadores utilizados para medir la diversidad genética, en esta tesis, son las subunidades de gluteninas HMW. La presencia de estas subunidades, nos indican los diferentes alelos existentes de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* en los trigos.

3.5.1. Variabilidad genética

La población o ecotipo, se caracteriza por la distribución de frecuencias de los alelos de los genes estudiados. En la Tabla 16 se pueden observar las frecuencias alélicas de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, de los 199 ecotipos de trigo gallego almacenados en el Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM.

Tabla 16. Frecuencias medias de los alelos de los tres loci estudiados, detectados en las 199 ecotipos de trigo gallego

Locus	Alelos	HMW-GS	Frecuencia media	Min	Max
Glu-A1	<i>Glu-A1a</i>	1	0,0277	0	0,4211
	<i>Glu-A1b</i>	2*	0,1003	0	1,0000
	<i>Glu-A1c</i>	Nula	0,0044	0	0,3571
	<i>Glu-A1y</i>	2••	0,6672	0	1,0000
	<i>Nuevo</i>	2* ^C	0,2004	0	1,0000
Glu-B1	<i>Glu-B1e</i>	20x+20y	0,1278	0	1,0000
	<i>Glu-B1f</i>	13+16	0,8377	0	1,0000
	<i>Glu-B1as</i>	13	0,0003	0	0,0400
	<i>Glu-B1at</i>	13+18	0,0012	0	0,0909
	<i>Glu-B1ba</i>	13*+16	0,0021	0	0,1379
	<i>Glu-B1bx</i>	7+17	0,0006	0	0,0714
	<i>Nuevo</i>	7*+16	0,0221	0	0,7000
	<i>Nuevo</i>	7*+18	0,0074	0	0,3000
	<i>Nuevo</i>	20y	0,0006	0	0,2000
	<i>Nuevo</i>	13+17	0,0003	0	0,0667
Glu-D1	<i>Glu-D1a</i>	2+12	0,9188	0	1,0000
	<i>Glu-D1c</i>	4+12	0,0012	0	0,1000
	<i>Glu-D1e</i>	2+10	0,0540	0	1,0000
	<i>Glu-D1h</i>	5+12	0,0021	0	0,1333
	<i>Glu-D1j</i>	2+12*	0,0171	0	0,3913
	<i>Glu-D1k</i>	2	0,0009	0	0,1000
	<i>Glu-D1l</i>	12	0,0030	0	0,5000
	<i>Glu-D1m</i>	10	0,0012	0	0,3000
	<i>Nuevo</i>	2+12**	0,0018	0	0,1667

Se puede observar en esta colección (tabla 16), la gran predominancia de los alelos *Glu-A1* y ($Ax2\bullet\bullet$), *Glu-B1f* ($Bx13+Bx16$) y el *Glu-D1a* ($Dx2+Dy12$).

Los parámetros de la diversidad genética fueron calculados para cada uno de los 199 ecotipos (Anexo 2), y para cada uno de los loci (*Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*) por separado con el programa SPAGeDi 1.5d, aunque en la tabla 17 se muestran tan sólo los datos promedio de la totalidad de los ecotipos para cada locus.

Tabla 17. Parámetros de diversidad genética promedio de 199 accesiones de trigo gallego

Locus	NA	Nae	RA	He	Ho	Fi	h
Glu-A1	5,00	2,02	3,59	0,50	0	1	0,44
Glu-B1	10,00	1,39	2,74	0,28	0	1	0,22
Glu-D1	9,00	1,18	2,41	0,15	0	1	0,16
Promedio	8,00	1,53	2,91	0,31	0	1	0,27

Número de alelos observados por locus (NA); número efectivo de alelos (Nae), riqueza alélica (RA), heterocigosidad observada (Ho) y esperada (He), índice de diversidad (h), coeficiente individual de endogamia (Fi)

En la tabla de los parámetros de diversidad genética de los 199 ecotipos (Anexo 2), se constató un rango amplio de diversidad, desde genotipos monomórficos para los tres loci ($He = 0$), a genotipos muy polimórficos ($He = 0,39$).

Aunque existan menos alelos en el locus *Glu-A1*, obtuvo una riqueza alélica y número efectivo de alelos mayor al resto de loci. Los índices He (0,50) y h (0,44) mostraron que la diversidad genética en el locus *Glu-A1* fue bastante superior al resto de loci (tabla 12). La heterocigosidad observada fue 0 en todos los loci y en todos los individuos analizados, con lo que se concluye que todos eran homocigotos, lo que produce unos valores idénticos del coeficiente individual de endogamia para todos los loci.

3.5.2. Estructura genética de la población

Con respecto a la estructura de la diversidad genética (tabla 18), se evaluaron con el programa SPAGeDi 1.5d los estadísticos “F”: coeficiente de endogamia total de la población (F_{IT}), el coeficiente endogamia intrapoblacional (F_{IS}) y el coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}).

Tabla 18. Estadísticos F de Wright del loci *Glu-1* para las 199 accesiones locales de trigo gallego

Locus	F_{IT}	F_{IS}	F_{ST}
Glu-A1	1	1	0,59
Glu-B1	1	1	0,69
Glu-D1	1	1	0,18
Promedio	1	1	0,55

Coeficiente de endogamia total de la población (F_{IT}), el coeficiente endogamia intra-poblacional (F_{IS}) y el coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST})

Al tener todos los ecotipos un valor 0 para el parámetro H_o , los valores de F_{IS} y F_{IT} toman el valor 1 para los tres loci (tabla 18), ya que existe ausencia de heterocigotos observados.

Los valores de F_{ST} , siguiendo las pautas de Wright, indican que existe una diferenciación genética muy grande ($F_{ST} > 0,25$) entre las poblaciones de ecotipos de trigo, con respecto a los loci *Glu-B1* y *Glu-A1*, y una gran diferenciación genética ($F_{ST} > 0,15$) entre las poblaciones en el locus *Glu-D1*.

Tabla 19. Diversidad genética existente en los 199 ecotipos de trigo gallegos

Locus	H_T	H_S	D_{ST}	G_{ST}
Glu-A1	0,435	0,187	0,248	0,570
Glu-B1	0,217	0,078	0,138	0,636
Glu-D1	0,156	0,119	0,037	0,237
Todos	0,269	0,128	0,141	0,481

H_T : Diversidad genética total; H_S : Diversidad genética dentro de ecotipos; D_{ST} : Diversidad genética entre ecotipos; G_{ST} : Coeficiente de diferenciación genética

La diversidad genética total según los parámetros de Nei, en el locus *Glu-A1* (0,435), duplica la del locus *Glu-B1* (0,217) (tabla 19). La diversidad intrapoblacional (H_S) encontrada dentro de los ecotipos es pequeña (0,078 a 0,187). Los valores de la tabla 19 nos muestran que los G_{ST} son altos con respecto a los loci *Glu-A1* y *Glu-B1*, con una diferenciación genética existente entre ecotipos de un 57% y 63%, respectivamente. En el caso del *Glu-D1*, el porcentaje sólo alcanza un 27,6%.

El análisis de varianza molecular (AMOVA) de los loci *Glu-1*, en 199 accesiones de trigo gallego (tabla 20 y figura 17) refleja que el 56,68% de la variación promedio encontrada está entre los ecotipos (componente interpoblacional), siendo los loci *Glu-B1* y *Glu-A1* los que contribuyen más a esta variación, ya que un 59,9% y 70,3% de su variación, respectivamente, corresponde a la diferencia entre ecotipos. El resto de la variación existente, 43,32%, está dentro de los ecotipos (componente intrapoblacional).

Tabla 20. Análisis de varianza molecular (AMOVA) desglosado por locus y en conjunto de los 3 loci, en 199 accesiones de trigo gallego

ENTRE ECOTIPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Va	Porcentaje de variación
Glu-A1	1039,87	198	0,151	59,86
Glu-B1	677,50	198	0,099	70,30
Glu-D1	119,63	198	0,016	20,94
DENTRO DE ECOTIPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Vb	Porcentaje de variación
Glu-A1	667,86	6579	0,102	40,14
Glu-B1	276,05	6579	0,042	29,70
Glu-D1	397,11	6579	0,060	79,06
MEDIA de los tres Loci				
Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	P-valor
Entre Ecotipos	1836,99	0,267	56,68	P<0,001
Dentro de Ecotipos	1341,03	0,204	43,32	
TOTAL	3178,03	0,471		

GL: grados de libertad. Va: varianza entre ecotipos. Vb: varianza dentro de ecotipos.

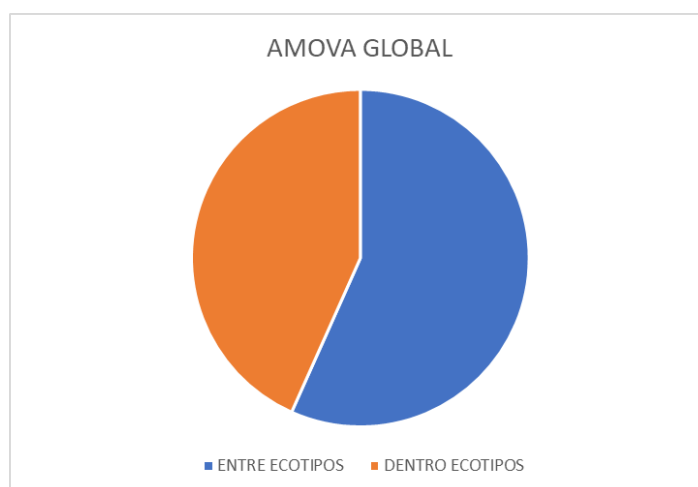


Figura 17. Análisis de varianza molecular (AMOVA) del locus *Glu-1*, en 199 accesiones de trigo gallego

Respecto al locus *Glu-D1*, se encuentra más variación dentro de los ecotipos, que entre diferentes ecotipos (tabla 20).

La estimación de las distancias genéticas entre poblaciones (F_{ST}), calculadas a través del AMOVA, nos dan unos valores que indican también que la diferenciación es debida sobre todo a los loci *Glu-B1* y *Glu-A1* (tabla 21).

Los porcentajes de variación en cada locus, entre diferentes poblaciones o ecotipos, resultantes del AMOVA (F_{ST}), se asemejan mucho a los calculados para cada locus mediante el coeficiente de diferenciación genética de Nei entre poblaciones (G_{ST}) (tabla 19).

Tabla 21. Coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST}), calculado por el AMOVA, para los loci *Glu-1*, en 199 accesiones locales de trigo gallego

Locus	F_{ST}
<i>Glu-A1</i>	0,599
<i>Glu-B1</i>	0,703
<i>Glu-D1</i>	0,209
Promedio	0,567

El F_{ST} promedio de Wright es equivalente al porcentaje de variación entre ecotipos del AMOVA, la diferencia en el valor se debe al método de obtención del valor F_{ST} ya que en el AMOVA se emplea otra distancia diferente a la empleada en el cálculo de las estadísticas F (F_{ST} , F_{IS} , F_{IT}).

En cuanto a los valores del coeficiente de diferenciación genética G_{ST} calculado a partir del índice de Shannon-Wiener y de diversidad genotípica de Nei corregida, corroboran los resultados del AMOVA, en donde la mayor varianza se encuentra también entre los ecotipos.

3.5.3. Análisis clúster y AMOVA

Con la matriz de las frecuencias alélicas de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, para cada uno de los 199 ecotipos de trigo gallego, y usando las distancias genéticas de Nei, se obtuvo la matriz de distancias genéticas, a partir de la que se construyó el dendrograma de agrupación por el método UPGMA (figura 16).

A partir del dendrograma obtenido de los 199 ecotipos de trigo, se dividió en 17 grupos la población total (tabla 24) y se realizó un análisis AMOVA con los 17 grupos creados para estudiar la estructura de la diversidad genética (tabla 22).

Los grupos formados son muy homogéneos, ya que la variación entre ecotipos de un mismo grupo sólo supone un 4,84% de la variación total analizada (tabla 22), a pesar de que el índice de fijación entre ecotipos dentro de grupos es significativo ($F_{SC}=0,11$; $p<0,001$). En cambio, el porcentaje de variación entre grupos es bastante elevado (58,4%), lo que refleja que existe una estructuración de la población total de los ecotipos, siendo el índice de fijación entre grupos significativo ($F_{ST}=0,63$; $p<0,001$). Con respecto a la variación existente dentro de los ecotipos (36,7%) es significativa ($F_{CT}=0,58$; $p<0,001$).

Tabla 22. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 17 grupos obtenidos en el dendrograma con los 199 ecotipos de trigo gallegos

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Indice de fijación	P-valor
Entre grupos	1632,95	0,325	58,42	FST	0,633 <0,001
Entre ecotipos dentro de grupos	201,49	0,027	4,84	FSC	0,116 <0,001
Dentro de ecotipos	1343,58	0,204	36,74	FCT	0,584 <0,001
Total	3178,03	0,556			

En la tabla 23 se muestra el AMOVA realizado para los 17 grupos, y desglosado por locus. Se observa que los loci *Glu-A1* y *Glu-B1*, son los que contribuyen más a la variación existente entre los grupos (V_a), con un 59,2% y 36,7%, respectivamente, mientras que la varianza debido al locus *Glu-D1* tan sólo supone un 3% del total. Además, el hecho de que el 63,4% y 70,5%, de la varianza de los loci *Glu-A1* y *Glu-B1*, respectivamente, sea debido a la diferencia entre grupos, indica que se consiguió una buena agrupación de los ecotipos. Entre ecotipos dentro del mismo grupo existe mucha uniformidad y la varianza es mínima (tabla 23).

Con respecto a la varianza existente dentro de los ecotipos, es la misma que antes de hacer la agrupación en 17 grupos, pero ahora supone menor porcentaje de la variación total de cada locus.

Tabla 23. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 17 grupos obtenidos en el dendrograma, desglosado por locus, en 199 accesiones de trigo gallego

ENTRE GRUPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Va	Porcentaje de variación
Glu-A1	962,77	16	0,192	63,39
Glu-B1	614,10	16	0,122	70,55
Glu-D1	56,09	16	0,010	12,69
ENTRE ECOTIPOS dentro de GRUPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Vb	Porcentaje de variación
Glu-A1	75,05	182	0,009	3,05
Glu-B1	63,16	182	0,009	5,24
Glu-D1	63,28	182	0,009	10,83
DENTRO DE ECOTIPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Vc	Porcentaje de variación
Glu-A1	669,91	6579	0,102	33,56
Glu-B1	276,30	6579	0,042	24,21
Glu-D1	397,37	6579	0,060	76,48

GL: grados de libertad. Va: varianza entre grupos. Vb: varianza entre ecotipos dentro de grupos. Vc: varianza dentro de ecotipos

Con respecto a la varianza existente dentro de los ecotipos, es la misma que antes de hacer la agrupación en 17 grupos, pero ahora supone menor porcentaje de la variación total de cada locus.

Tabla 24. Agrupación de los 199 ecotipos de trigo gallegos en 17 grupos obtenidos por sus semejanzas en HMW-GS codificados por los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*

ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO	GRUPO
1	1	76	1	164	1	95	3	114	13
2	1	77	1	165	1	126	3	127	13
3	1	82	1	166	1	130	3	131	13
7	1	85	1	167	1	143	3	137	13
8	1	91	1	168	1	154	3	145	13
9	1	93	1	169	1	198	3	149	13
10	1	94	1	171	1	162	4	150	13
11	1	96	1	173	1	176	5	151	13
12	1	99	1	177	1	203	6	152	13
13	1	100	1	180	1	33	7	153	13
14	1	101	1	181	1	170	7	155	13
15	1	103	1	182	1	190	7	156	13
16	1	104	1	183	1	4	8	160	13
17	1	106	1	184	1	6	8	174	13
18	1	107	1	185	1	37	8	175	13
19	1	111	1	191	1	47	8	186	13
21	1	112	1	195	1	144	8	187	13
22	1	115	1	197	1	51	9	188	13
23	1	117	1	199	1	52	9	189	13
25	1	118	1	200	1	98	9	192	13
29	1	119	1	202	1	116	9	193	13
30	1	120	1	204	1	109	10	201	13
31	1	121	1	206	1	158	11	135	14
34	1	122	1	28	2	24	12	40	15
35	1	123	1	46	2	172	12	41	15
36	1	124	1	69	2	207	12	42	15
39	1	125	1	92	2	26	13	43	15
45	1	128	1	108	2	38	13	44	15
48	1	129	1	157	2	50	13	57	15
49	1	132	1	159	2	58	13	71	15
53	1	133	1	179	2	61	13	72	15
54	1	134	1	208	2	63	13	97	15
55	1	136	1	5	3	64	13	110	15
56	1	138	1	27	3	83	13	194	15
59	1	139	1	32	3	84	13	196	15
62	1	140	1	78	3	88	13	205	16
68	1	141	1	79	3	89	13	73	17
70	1	142	1	80	3	90	13	86	17
74	1	147	1	81	3	102	13	146	17
75	1	163	1	87	3	113	13		

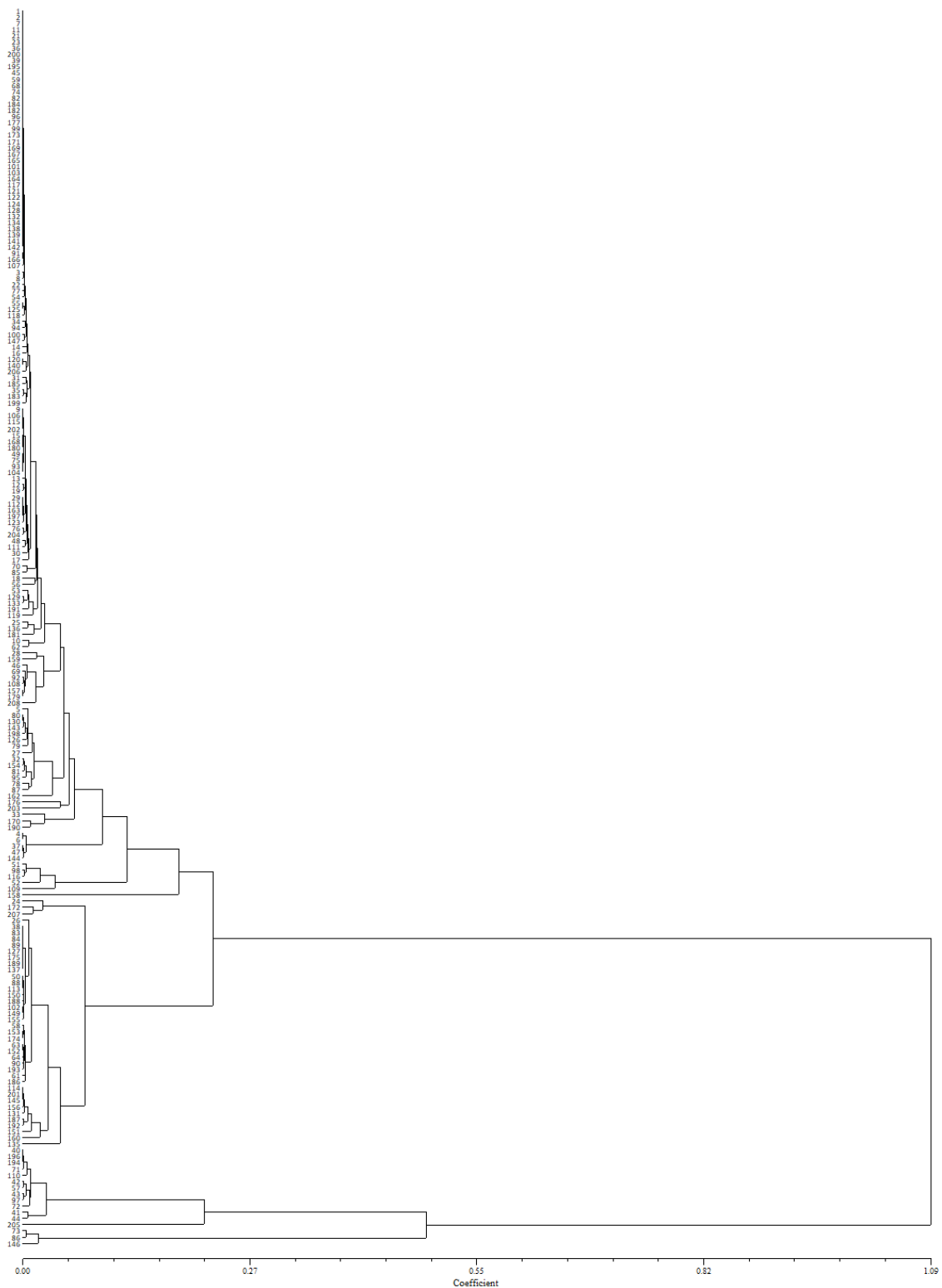


Figura 16. Dendrograma de 199 genotipos de trigo para los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, usando la distancia de Nei y el método aglomerativo UPGMA



4. DISCUSIÓN



El polimorfismo es algo habitual en las variedades locales de trigo, fruto del intercambio y selección realizado por los agricultores durante largo tiempo. Aunque se encontró un alto polimorfismo (79,4%) en las variedades locales gallegas, no es algo ajeno a otras colecciones, con valores del 26,7% en una colección española de ecotipos de trigos duros (Chacón *et al.*, 2020), y el 54% en una colección de ecotipos antiguos (Gregová *et al.*, 2006). Algunas veces el que se muestre o no el polimorfismo depende de la cantidad de muestras analizadas o la procedencia de las mismas (una o varias espigas/planta), o incluso el procedimiento de multiplicación usado en el Banco de germoplasma, o que las accesiones testadas sean líneas puras seleccionadas de un material original (Guzman *et al.*, 2011; Ruíz *et al.*, 2018). Este polimorfismo también es habitual en cultivares antiguos, con un 66% en trigos estonios (Tikhonova *et al.*, 2018), sobre todo por los diversos procedimientos de selección utilizados y por reglas no tan estrictas en el registro de estas, como en variedades modernas.

El hecho de utilizar material procedente directamente de las explotaciones, en vez de usar espigas multiplicadas a partir de los granos originales y escogidas previamente, incidió en el porcentaje tan grande de polimorfismo encontrado.

4.1. LOCUS *GLU-A1*

4.1.1. Alelos *Glu-A1a* (1), *Glu-A1b* (2*) y *Glu-A1c* (Nulo)

El locus *Glu-A1* es donde se han descrito menos alelos en trigos blandos. En estudios realizados sobre amplias colecciones de diversos países, las frecuencias alélicas medias de las subunidades de HMW más frecuentes 1, 2* y Nulo (*Glu-A1a*, *Glu-A1b* y *Glu-A1c*, respectivamente), fueron de 28%, 28% y 44% (Payne y Lawrence, 1983) en un conjunto de 300 cultivares de todo el mundo, 36%, 33% y 31% (Morgunov *et al.*, 1993) en un estudio de 1.380 cultivares de países de cuatro continentes, 30%, 49% y 21% (Tohver, 2007) en 229 cultivares nórdicos y centroeuropeos, y 37%, 29% y 34% (Liu *et al.*, 2009) en 103 cultivares de 12 países. En 2011 se hizo un estudio sobre en 718 cultivares y líneas mejoradas de 20 países, y el porcentaje de la subunidad 2* fue de 43,3% (Jin *et al.*, 2011). Sin embargo, la frecuencia citada varía en gran medida según los países estudiados, teniendo más del 70% de los cultivares de Canadá, Rusia, EE.UU. y Rumanía, la subunidad 2*, y menos del 21% de la misma, los cultivares de Japón, China, Alemania y

Austria (Jin *et al.*, 2011). En un estudio más reciente sobre 20 cultivares marroquíes se encontró un porcentaje de 60% para la subunidad 2* (Henkrar *et al.*, 2017).

Posiblemente la utilización por los mejoradores de parentales con *Glu-A1b*, por sus buenas aptitudes panaderas, hizo que las frecuencias alélicas de este alelo se hayan incrementado en las últimas décadas en las colecciones de cultivares de muchos países.

Sin embargo, en colecciones de accesiones locales de trigo blando o cultivares antiguos no es fácil encontrar el alelo *Glu-A1b* en altas frecuencias alélicas. En una población de 67 ecotipos y cultivares antiguos de trigo blando de 15 países europeos (Gregová *et al.*, 2004), se encontraron frecuencias inferiores al 5% para la subunidad 2*, similar al encontrado en 94 antiguos cultivares italianos (Pogna, 1989) y en 28 antiguos cultivares polacos (Filip, 2018). En el caso del estudio de 229 accesiones de trigos tibetanos (Yan *et al.*, 2007), y el estudio de poblaciones de trigo endémicas de China (Fang *et al.*, 2009), las frecuencias fueron superiores al 94% de la subunidad nula, e inferiores al 1% de la subunidad 2*. En una colección de accesiones de trigo afganas, encontraron porcentajes de 8,5% y 16,8% para las subunidades 1 y 2*, respectivamente (Terasawa *et al.*, 2009). En estudios más recientes de 517 ecotipos de trigo indios (Goel *et al.*, 2018), y 172 ecotipos de trigo pakistaníes (Yasmeen *et al.*, 2015), encontraron porcentajes para las subunidades 1 y 2*, de 2,3% y 29,4%, y 21% y 21,5%, respectivamente. Sin embargo, en algunos países sí que se han encontrado mayores frecuencias de la subunidad 2*, como en 44 cultivares antiguos y ecotipos marroquíes (Bhakella y Branlard, 1997), un 54% en genotipos argelinos (Bellil *et al.*, 2014), y cerca del 50% de 23 ecotipos indios del Himalaya (Routray *et al.*, 2007).

Con respecto a estudios sobre colecciones de variedades o poblaciones locales de trigos blandos españoles, se observaron frecuencias de 24%, 32% y 44% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990), y 24%, 61% y 15% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1994), y 22%, 62% y 10% (Ayala *et al.*, 2016), para las subunidades 1, 2* y Nulo, respectivamente, en sendas colecciones. En estudios sobre poblaciones autóctonas portuguesas aparecen unas frecuencias del alelo *Glu-A1b*, subunidad 2*, mayores a las citadas antes, de 60,9% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1998) y 49,7% (Igrejas *et al.*, 1997). E incluso mayores frecuencias, 84,4%, 79,3% y 65,8%, en un estudio de 2012 (dos Santos *et al.*, 2012), sobre poblaciones portuguesas, canarias y de madeira, respectivamente. Incluso la subunidad Nula (alelo *Glu-A1c*), no se detectó en las accesiones portuguesas de 1997 (Igrejas *et al.*, 1997) y 2012 (dos Santos *et al.*, 2012).

Las frecuencias tan bajas encontradas de la subunidad 1 (2,7%) y Nula (0,4%), en los ecotipos gallegos, coincidiría únicamente con las citadas por Igrejas *et al.* (1997), en accesiones locales portuguesas, pero se distancia mucho de los porcentajes encontrados en las poblaciones españolas.

Con respecto al alelo *Glu-A1b*, aunque en los primeros análisis de la colección gallega calculamos un 25% de la subunidad 2*, sucesivos geles con mejor resolución y más alto tiempo de corrido, y posterior análisis PCR sobre plantas de granos testados, demostraron que el porcentaje estaba sobrevalorado y tan solo el 10% de los individuos testados tenían la subunidad 2*, y el resto correspondían a una nueva banda (2*^C).

4.1.2. Alelos *Glu-A1y* (2••)

Además de las anteriores subunidades, existe otra muy presente en las accesiones gallegas, denominada 2•• (alelo *Glu-A1y*). Esta subunidad fue descrita por primera vez en 1997 (Igrejas *et al.*, 1997) en una diversa población local de trigo portugués denominada “Barbela”, y posteriormente en el cultivar Ribeiro (Brites *et al.*, 2000), y en una línea de mejora suiza (Gobaa *et al.*, 2007).

La dificultad en diferenciar correctamente las subunidades 2* y 2••, por la técnica de electroforesis SDS-PAGE en estudios precedentes (Payne y Lawrence, 1983; Morgunov *et al.*, 1993; Tohver, 2007), podría ser debido en parte a la no utilización de la extracción secuencial de gluteninas descrita por Singh *et al.* (1991). De manera que es probable la mala asignación de la subunidad 2* o 1, a algunos trigos que poseen la subunidad 2••. Esto mismo fue comprobado por Giraldo *et al.* (2010), en una colección de 165 variedades tradicionales españolas de trigo blando provenientes del Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos (CRF), en el que las frecuencias obtenidas para el locus *Glu-A1* fueron 13%, 54%, 17% y 16%, para las subunidades 1, 2*, Nulo y 2••, respectivamente. Sin embargo, el alelo *Glu-A1y* no fue detectado en estudios previos similares realizados por Rodríguez-Quijano *et al.* (1990 y 1994) en colecciones de accesiones autóctonas españolas, en las que no se utilizó el protocolo de Singh *et al.* (1991).

La alta frecuencia de la subunidad 2•• (66,7%), observada en la población gallega de trigos, es mucho mayor a la encontrada por Giraldo *et al.* (2010) en accesiones españolas, y sólo es comparable con la hallada por Igrejas *et al.* (1997) en la población local portuguesa “Barbela”, con un 40%. Si bien en los estudios de otras colecciones portuguesas, Rodríguez-Quijano *et al.* (1998) y dos Santos *et al.* (2012), no detectaron

dicha subunidad, ésta última no usó el protocolo de Singh *et al.* (1991) para la extracción, con 4-vinilpiridina para alquilar las muestras, con lo que es posible que no se discriminase entre las subunidades 2* y 2••. Posteriormente, Ribeiro *et al.* (2011) observarían una frecuencia del 13,4% de la subunidad 2•• en una colección antigua de cultivares portugueses, lo que se asemeja a los valores dados por Giraldo *et al.* (2010), y mostraría una distribución similar de este alelo en la península ibérica. Sin embargo, como demuestran Ribeiro *et al.* (2011) e Igrejas *et al.* (1999), dicho alelo *Glu-A1* no forma parte de los trigos cultivados en la actualidad en Portugal, y casi con toda certeza tampoco en los cultivados en España, ya que se usan las mismas variedades, y además es un alelo descubierto recientemente, por lo que no existirán muchas líneas de mejora que lleven este alelo y que hayan podido incluirse en cultivares modernos.

4.1.3. Nuevo alelo (2*^C)

La dificultad de diferenciar la subunidad 2*, ha llevado a usar altos tiempos de corrido del gel de electroforesis, que ha supuesto la detección de una nueva subunidad ligeramente por encima de la subunidad 2*. Esta nueva subunidad se ha denominado 2*^C, por su proximidad a la subunidad 2*. Para todas aquellas accesiones que en un principio tenían asignadas la subunidad 2*, se les hizo una comprobación por la técnica PCR para asegurarse de la correcta asignación. Para ello se realizó la amplificación del ADN, utilizando los marcadores UMN19F y UMN19R, que permitió diferenciar en los geles de agarosa las bandas de 362 y 344 bp, que discrimina entre las subunidades Ax1 (alelo *a*), AxNula (alelo *c*) y Ax2•• (alelo *y*), y el alelo Ax2* (alelo *b*), respectivamente.

Este nuevo alelo (2*^C), sin denominación todavía, aparece en la colección gallega de trigos en una proporción bastante alta (20%), y nunca ha sido descrita en ecotipos o cultivares de trigo blando españoles, ni en ninguna accesión foránea.

Queda por tanto realizar una secuenciación de dicho alelo, para confirmar que se trata de un alelo diferente a los ya existentes.

4.2. LOCUS *GLU-B1*

4.2.1. Alelos *Glu-B1e* (20x+20y) y *Glu-B1f* (13+16)

En previos trabajos realizados con variedades locales españolas se encontraron altas frecuencias de los pares de subunidades 13+16 y 20x+20y: 12,7% y 54,6% (Michelena *et al.*, 1990), 14,3% y 51,4% (Rodríguez-Quijano *et al.*; 1990), 14,5% y 66,7%, (Giraldo *et al.*, 2010), y 11,7% y 57,1% (Ayala *et al.*, 2016), respectivamente. Estos porcentajes son mucho mayores a los encontradas en estudios realizados en colecciones internacionales de cultivares de trigo, con frecuencias menores al 4% (Payne y Lawrence, 1983; Morgunov *et al.*, 1993; Tohver, 2007; Liu *et al.*, 2009). En colecciones de accesiones locales marroquí, chinas, koreanas, japonesa y afganas, ni siquiera aparecen estas subunidades o con frecuencias inferiores a 1% (Bakhella y Branlard, 1997; Fang *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2018), y en colecciones de variedades antiguas italianas no se encontró el par 13+16 (Pogna *et al.*, 1989). En otro estudio de 67 ecotipos y cultivares antiguos de 15 países europeos (Gregova, *et al.*, 2004), el porcentaje fue menor del 1% para el par 13+16, que sólo apareció en una variedad checoslovaca, encontrándose el par 20x+20y en una frecuencia del 19,4%. Tan sólo en colecciones de cultivares de Brasil, Suecia y Pakistán (Morgunov *et al.*, 1993; Khalid *et al.*, 2019), se detectaron frecuencias por encima del 10% del par 13+16, y en una colección de ecotipos pakistaníes una frecuencia del 35% del par 20x+20y (Lee *et al.*, 2018).

En las colecciones de variedades locales portuguesas analizadas por varios autores también se encontraron frecuencias altas de los pares 13+16 y 20x+20y, con un 17,2% y 50% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1998) y un 23,1% y 5,8%, respectivamente (Brites *et al.*, 2000). Sin embargo, en la colección de variedades tradicionales gallegas, todavía es más acusada la frecuencia del par 13+16 (83,8%) que en las colecciones citadas, aunque menor del par 20x+20y (12,8%), encontrando una similitud mayor con la población local portuguesa “Barbela”, con una frecuencia del 70% del par 13+16 (Igrejas *et al.*, 1997).

Los altos porcentajes encontrados del par 13+16 en este trabajo, confirman lo citado por Giraldo *et al.* (2010), sobre la alta conservación de estos pares de subunidades en la península ibérica, ya que el par de subunidades 13+16 también aparece con una frecuencia superior al 87% en colecciones de *Triticum aestivum* L. ssp. *spelta* del norte de España (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Caballero *et al.*, 2001 y 2004), aunque en el caso de las espeltas, también se encontraron altas frecuencias (42%) en colecciones del centro

de Europa (Yan *et al.*, 2003). Incluso en las poblaciones antiguas de Madeira y Canarias, originarias de Portugal, se encuentran altas frecuencias del par de subunidades de gluteninas 13+16, con 47% y 31%, respectivamente (dos Santos *et al.*, 2012).

A pesar de la buena calidad panadera que proporciona el par de subunidades 13+16, al contrario que el par 20x+20y (Giraldo *et al.*, 2010), y a la gran frecuencia de dichas subunidades en las variedades tradicionales ibéricas, no ha sido casi introducido en los programas de mejora con lo que está muy poco representado en los cultivares de trigo utilizados en España y Portugal, 3,6% y 1,6-3,8%, según las colecciones de trigo posteriores a la revolución verde, estudiadas en España (Carrillo *et al.*, 1988) y Portugal (Igrejas *et al.*, 1999; Ribeiro *et al.*, 2011), respectivamente. Lo mismo ocurre en otras colecciones de cultivares más actuales, con frecuencias del par 13+16 de 1,9%, 0% y 3%, en 103 genotipos de trigos de 12 países (Liu *et al.*, 2009), 20 cultivares marroquíes (Henkrar *et al.*, 2017), y 102 cultivares de siete países (Zaitseva *et al.*, 2017), respectivamente.

4.2.2. Nuevos alelos (7*+16 y 7*+18)

La primera vez que se detectó la subunidad Bx7*, con una movilidad en SDS-PAGE ligeramente superior a la banda 7, fue en la variedad Fiorello (Pogna *et al.*, 1989), y posteriormente en la variedad Norstar, Marchylo *et al.* (1992) volvieron a diferenciarlo de la subunidad Bx7. Ragupathy (2008) describió las diferencias moleculares entre las subunidades Bx7, Bx7* y Bx7^{OE} (sobreexpresión de la subunidad Bx7). La pequeña diferencia de movilidad entre la subunidad Bx7 y Bx7*, es debido a una delección de 18 bp en la última, y es difícil de clasificar por SDS-PAGE, aunque visible cuando el gel se deja correr el tiempo suficiente. Por ello se diseñaron primers para poder discriminarlos correctamente por el método PCR, ya que anteriormente muchas variedades se habían clasificado mal por la subunidad Bx7, con respecto a la subunidad Bx7* (Espí *et al.*, 2012). Un intenso teñido de la subunidad Bx7 con la técnica SDS-PAGE indicaría la presencia de la subunidad 7^{OE} (Butow, 2004), pero en la colección gallega no se encontró ni la subunidad Bx7, ni la Bx7^{OE}, sino únicamente la subunidad 7*.

Sin embargo, la subunidad Bx7* nunca ha aparecido asociada a las subunidades By16 y By18, por lo que representarían dos nuevos alelos (raras recombinaciones) no descubiertos hasta ahora, al contrario de la combinación Bx7+By16 encontrada por Rodríguez-Quijano *et al.* (1990) en variedades tradicionales españolas.

En la colección de trigos gallegos, los pares de subunidades Bx7*+By16 y Bx7*+By18 son una combinación rara y muy rara del locus *Glu-B1*, respectivamente. La combinación Bx7*+By16, con una frecuencia del 2,21% se detectó en 18 ecotipos gallegos, y la combinación Bx7*+Bx18 tuvo una frecuencia de 0,74%, apareciendo en tan sólo 10 ecotipos.

4.2.3. Alelos *Glu-B1at* (13+18) y *Glu-B1ba* (13*+16)

El alelo *Glu-B1at*, par 13+18, fue descrito por primera vez por Rodríguez-Quijano *et al.* (1990) en una colección española de 118 trigos espeltas, con una frecuencia bastante alta (11,9%). Posteriormente, se detectó en estudios de varias colecciones de accesiones de espeltas de origen español con una frecuencia del 6% (Caballero *et al.*, 2001 y 2004), pero nunca en poblaciones locales de trigos blandos. En nuestro estudio se encontró en cuatro ecotipos gallegos, con una frecuencia alélica del 0,12%.

El alelo *Glu-B1ba*, par 13*+16, es un alelo raro, encontrado por primera vez con una frecuencia alélica del 3%, en una colección de 403 accesiones españolas de trigos espeltas (Caballero *et al.*, 2001). La subunidad 13* tiene una movilidad ligeramente mayor a la 13. Posteriormente, Caballero volvería a encontrar la combinación 13*+16, en una colección de trigos espeltas asturianos (2004) y en tres accesiones de trigos criollos mejicanos (2010). La subunidad 13* también fue encontrada por An *et al.* (2005) en varios trigos espeltas europeos, asociado a la subunidad 19*, pero nunca ha sido identificada en accesiones o variedades de trigo blando. En la colección de trigos autóctonos gallegos, se detectó en cuatro ecotipos y con una frecuencia alélica del 0,21%.

4.2.4. Alelo *Glu-B1as* (Bx13)

En la colección de trigos gallegos, la presencia del alelo *Glu-B1as* es muy raro, ya que se detectó en una frecuencia del 0,03%, y que solo se observó en un ecotipo gallego. Esto coincide con la frecuencia del 0,06% encontrada en una colección de 165 ecotipos de trigo blando (Giraldo *et al.*, 2010), en incluso con la no detección de dicho alelo en otras colecciones españolas (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Ayala *et al.*, 2016). También fue observado en poblaciones locales de espeltas en frecuencias por debajo del 1% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Caballero *et al.*, 2001). Sin embargo, se encontró en alta

frecuencia, 29%, en una amplia población tradicional portuguesa, denominada Barbela (Igrejas *et al.*, 1997).

4.2.5. Nuevo alelo (13+17)

Aunque en la bibliografía se han citado las combinaciones de subunidades 13+16, 13+18, 13+19 y 13+22 del locus *Glu-B1*, no se ha encontrado en trigos blandos la combinación 13+17.

En la colección de trigos gallegos, el par de subunidades 13+17 es una combinación muy rara del locus *Glu-B1*, que se presenta con una frecuencia del 0,03%, y que solo se observó en un ecotipo gallego.

4.2.6. Alelo *Glu-B1bx* (7+17)

El alelo 7+17 fue descubierto por primera vez en tres accesiones de trigo criollo mejicano descendientes de antiguos trigos españoles llevados a México (Caballero *et al.*, 2010). Desde entonces no ha vuelto a citarse este alelo en otras colecciones, por lo cual se puede considerar como muy raro.

En las accesiones gallegas solo se detectó en dos ecotipos de trigo, teniendo una frecuencia alélica del 0,06% del *Glu-B1*.

4.2.7. Nuevo Alelo (By20)

Aunque la subunidad Bx20 viene combinada normalmente con la subunidad By20 (alelo *Glu-B1e*), Rodríguez-Quijano *et al.* (1998) citaron por primera vez en una variedad tradicional de trigo blando portugués un alelo con la única subunidad Bx20, que posteriormente otros autores lo volverían a encontrar en algunas variedades tradicionales de trigos duros españoles (Ruiz *et al.*, 2018; Chacón *et al.*, 2020).

Pero hasta la actualidad no se había citado una única banda con la misma movilidad electroforética que la subunidad By20, que fue observada en un ecotipo de la colección gallega de trigos blandos con una frecuencia muy baja (0,06%).

4.3. LOCUS *GLU-D1*

4.3.1. Alelo *Glu-D1a* (2+12)

La distribución de las subunidades de gluteninas HMW del locus *Glu-D1* encontradas en las variedades locales gallegas, no difieren mucho de aquellas encontradas en otras colecciones de ecotipos españoles y portugueses (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Igrejas *et al.*, 1997; Rodríguez-Quijano *et al.*, 1998; Brites *et al.*, 2000; Giraldo *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2011), ecotipos chinos (Zhang *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2007; Fang *et al.*, 2009), ecotipos indios (Goel *et al.*, 2018), y pakistaníes (Yasmeen *et al.*, 2015), todos con una alta predominancia del par de subunidades 2+12 (alelo *Glu-D1a*), y una baja o nula proporción del par 5+10. Al contrario de lo encontrado en colecciones americanas, canadienses y mejicanas (Morgunov, 1993).

Detectado en el 100% de los ecotipos gallegos, corresponde al 91,88% de todos los granos analizados. Esta gran homogeneidad encontrada en el *Glu-D1* es similar a otras colecciones de ecotipos y cultivares obsoletos europeos (Gregová *et al.*, 2006), así como a las frecuencias encontradas en diversas colecciones de accesiones de espeltas (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Caballero *et al.*, 2001; An *et al.*, 2005).

4.3.2. Alelo *Glu-D1e* (2+10)

A diferencia de las colecciones de poblaciones locales españolas (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990; Giraldo *et al.*, 2010) y portuguesas (Igrejas *et al.*, 1997; Rodríguez-Quijano *et al.*, 1998; Ribeiro *et al.*, 2011; dos Santos *et al.*, 2012), en la colección gallega no aparece la combinación de subunidades 5+10. Sin embargo, aparece la combinación 2+10, con una frecuencia mayor al 5%, la cual no se encontró en las poblaciones españolas por los citados autores, y tan sólo aparece en frecuencias entre el 6% y 24% en el estudio de dos Santos *et al.* (2012), sobre poblaciones de trigo autóctonas de las Islas Canarias, Madeira y Portugal.

Esto representa una primera diferenciación entre el genoma de trigo gallego y el del resto de la España peninsular, que al igual que lo que sucede con el alelo *Glu-A1y*, parece más similar al genoma portugués.

Este alelo *Glu-D1e* también se encontró con una frecuencia del 1,5% de espeltas centroeuropeos (An *et al.*, 2005), y con una frecuencia del 0,7% en variedades locales

afghanas (Terasawa *et al.*, 2009). Recientemente en un ecotipo chino y dos ecotipos afganos (Lee *et al.*, 2018).

4.3.3. Alelo *Glu-D1c* (4+12)

La pareja de subunidades 4+12 codificada por el locus *Glu-D1*, fue detectada por primera vez en el cultivar Champlein (Payne y Lawrence, 1983).

En la colección gallega aparece como muy raro alelo (0,11%), detectado sólo en algunas muestras de 4 ecotipos.

En distintos estudios de colecciones españolas autóctonas de trigos blandos se encontraron diferentes porcentajes de este alelo: 16,3% (Michelena *et al.*, 1990), 8,1% (Rodríguez-Quijano *et al.*, 1990), 24,2%, (Giraldo *et al.*, 2010), respectivamente. Por tanto, el bajo porcentaje de este alelo en la colección gallega difiere sustancialmente de los hallados en colecciones españolas de variedades tradicionales de trigo blando, y solo se asemejaría al estudio con 46 accesiones andaluzas de trigo en donde no se detectó dicho alelo (Ayala *et al.*, 2016). En otros estudios internacionales de cultivares de trigo blando este raro alelo se encontró en un porcentaje inferior al 5% (Payne y Lawrence, 1983; Morgunov *et al.*, 1993; Tohver, 2007; Liu *et al.*, 2009). En la colección internacional de trigos analizada por Morgunov (1993), el porcentaje más alto encontrado de este alelo es en los cultivares españoles, con un 12,1%, lo que coincide con los estudios españoles citados.

4.3.4. Alelo *Glu-D1h* (5+12)

La pareja de subunidades 5+12 codificada por el locus *Glu-D1*, es una rara recombinación entre los genes x e y del locus *Glu-D1* (Pogna *et al.*, 1987), y apareció por primera vez en los cultivares Fiorello, Funelo, y Clara. Terasawa *et al.* (2009) también lo detectaron en tres ecotipos afganos y en tres ecotipos pakistaníes.

En la colección gallega aparece como muy raro alelo (0,21%), detectado sólo en algunas muestras de cinco ecotipos. Sin embargo, no se detectó en ninguna de las colecciones españolas autóctonas de trigos blandos analizadas por Michelena *et al.* (1990), Rodríguez-Quijano *et al.* (1990), Giraldo *et al.* (2010) y Ayala *et al.* (2016), por lo que debe ser una muy rara recombinación.

Esta pareja de subunidades 5+12 tan sólo se encontró en un 0,4% de los 1.360 cultivares testados por Morgunov (1993) en una colección mundial de trigos, detectándose tan sólo en trigos italianos, rusos y chinos.

Sin embargo, el alelo *Glu-D1h* es común en las líneas de trigos sintéticos hexaploides (Peña *et al.*, 1995; Rasheed *et al.*, 2012)

4.3.5. Alelo *Glu-D1g* (2+12*)

La pareja de subunidades 2+12*, alelo *Glu-D1j*, fue detectada por primera vez por Pogna *et al.* (1989) en el cultivar Tudest, y posteriormente por Rodríguez-Quijano *et al.* (1990) en la variedad tradicional Gordejuela. D'Ovidio *et al.* (1994) estudiaron también dos líneas de trigo con este alelo. Posteriormente Fang *et al.* (2009) y dos Santos *et al.* (2012), lo detectaron en dos clases de trigos chinos endémicos y en variedades locales portuguesas, respectivamente. Yasmeeen *et al.* (2015) también lo detectaron en varias poblaciones locales de Baluchistan (Pakistan) y Dai *et al.* (2020) en una variedad histórica de Xinjiang (China).

Además de ser detectado en poblaciones y cultivares de trigo común, Caballero *et al.* (2001 y 2010), lo detectaron en accesiones de trigo espelta españolas y en poblaciones de trigo criollo mejicano.

En la colección gallega aparece como un alelo raro (1,71%), detectado en algunas muestras de 16 ecotipos.

4.3.6. Nuevo alelo (2+12**)

Sólo se detectó en cuatro ecotipos, mostrándose como un alelo muy raro en la colección gallega (0,22%), y con baja cantidad de proteína (banda más tenue).

Aunque no se consiguieron testigos, para poder testarlos en la presente tesis, en la bibliografía se encontraron dos tipos de subunidades similares en movilidad electrofórica. En los dos casos, se trata de una banda que aparece bastante más abajo que la subunidad 12. La primera subunidad se trata de una citada por Caballero *et al.* (2001), en un estudio sobre 403 accesiones de espeltas. En su artículo, la denominaron 12*, y posteriormente se designaría como alelo *Glu-D1an* en el Catalogue of Gene Symbols of Wheat. La segunda subunidad se trata de la denominada T2, citada como nueva por Ayala *et al.* (2016), en la accesión BGE036374. Estas dos subunidades,

podrían tratarse de la misma subunidad que la denominada 12** en la presente tesis, pero para verificarlo es necesario testarlas por SDS-PAGE en el mismo gel.

4.3.7. Alelo *Glu-D1k* (2)

En la colección de trigos gallegos se detectó en tres ecotipos gallegos la subunidad Dx2 sin estar asociada a otra subunidad, en una frecuencia del 0,09%. Fue citado por primera vez por Galili y Feldman (1984), pero no se ha citado en otras colecciones.

4.3.8. Alelo *Glu-D1l* (12)

El alelo *Glu-D1l*, subunidad Dy12, fue descrito por primera vez por Lagudah *et al.* (1987) en una variedad afgana. Terasawa *et al.* (2009), lo volvieron a detectar en seis variedades locales afganas, y en dos iraníes. Rodríguez-Quijano *et al.* (1990) lo detectaron en una frecuencia de 1,3% y 4,2%, en una colección española de ecotipos de trigo panadero y trigos espeltas, respectivamente. Más actualmente, también fue citado por Yasmeeen *et al.* (2015) y Lee *et al.* (2018), en un ecotipo de trigo pakistaní y un ecotipo coreano, respectivamente. En la colección gallega de trigos se detectó en seis ecotipos, pero en una frecuencia muy baja con respecto del total de muestras analizadas (0,30%). Por tanto, es un alelo raro, detectado en muy pocas colecciones.

4.3.9. Alelo *Glu-D1m* (10)

El alelo *Glu-D1m*, subunidad Dy10, también fue descrito por primera vez por Lagudah *et al.* (1987) en una variedad afgana, y posteriormente por Terasawa *et al.* (2009), en una colección de ecotipos afganos con una frecuencia del 6,1%. Este alelo no se detectó en ninguna de las colecciones españolas autóctonas de trigos blandos analizadas por Michelena *et al.* (1990), Rodríguez-Quijano *et al.* (1990), Giraldo *et al.* (2010) y Ayala *et al.* (2016), ni en las colecciones de trigo portuguesas.

En la colección gallega de trigos se detectó tan sólo en 2 ecotipos, pero en una frecuencia muy baja con respecto del total de muestras analizadas (0,30%). Recientemente, Lee *et al.* (2018), lo observaron en un ecotipo chino.

4.4. CALIDAD PANADERA

Las subunidades 1 y 2* del locus *Glu-A1* han sido asociadas en diferentes estudios con buenas calidades panaderas (Branlard y Dardevet, 1985; Payne *et al.*, 1987; Branlard *et al.*, 2001; Zheng *et al.*, 2009, Li *et al.*, 2016), en contraposición al efecto de la subunidad nula. Incluso algunos estudios han asociado a la subunidad 2*, mejor calidad que la subunidad 1 (Pogna y Mellini, 1986; Branlard *et al.*, 1992; Igrejas *et al.*, 2002), pero otros no han encontrado diferencias entre ellas (Takata *et al.*, 2000). No hay muchos estudios acerca de la influencia de la HMW-GS 2•• en las propiedades reológicas del gluten, pero Gobba *et al.* (2007) demostraron con una población de dobles haploides, que las subunidades HMW 2* y 2••, producían los mismos efectos positivos en la calidad. Además, en un estudio sobre 165 ecotipos de trigo españoles, la subunidad 2•• produjo un alto volumen de sedimentación (SDSS) comparado con las subunidades 1 y 2* (Giraldo *et al.*, 2010). Los datos obtenidos en esta tesis por los procedimientos ANOVA y regresión simple (Capítulo II), sobre el efecto del alelo *Glu-A1y* respecto de los valores de SDSS, apoyan la buena calidad que proporciona la glutenina HMW 2••, con respecto al nuevo alelo (2*^C) encontrado.

Por tanto, la alta frecuencia de los alelos *Glu-A1y* (2••) y *Glu-A1b* (2*) en la colección de accesiones de trigos gallegos, con respecto al alelo *Glu-A1c*, se puede considerar como muy positiva. Con respecto a la alta frecuencia del alelo nuevo (2*^C) no tenemos datos de otros estudios, pero los calculados en esta tesis por ANOVA y regresión simple, parecen indicar peor calidad que el alelo *Glu-A1y*.

Sobre el efecto de las subunidades del *Glu-B1* sobre la calidad panadera, es conocida la correlación positiva con la calidad panadera de los trigos del par de 13+16 (Branlard y Dardevet, 1985; Lukow *et al.*, 1989; Branlard *et al.*, 2001; Giraldo *et al.*, 2010), y por tanto es muy positivo la alta frecuencia encontrada de este par dentro de las muestras analizadas de trigos gallegos. La calidad aportada por el par 13+16, no sólo es debido a la fuerza panadera (W), sino también a la extensibilidad (L) que aporta a las masas (Branlard *et al.*, 2001). Pang *et al.* (2008) describieron la estructura molecular del par de subunidades 13+16, definiendo la secuencia completa de nucleótidos y la secuencia deducida de aminoácidos, atribuyendo su calidad panificable al gran tamaño de los genes *1Bx13* y *1By16*, comparado con otros alelos del locus *Glu-B1*. Con respecto al alelo *Glu-B1e*, se ha demostrado en muchos estudios que el par de subunidades 20x+20y, proporciona una baja calidad de pan (Takata *et al.*, 2000; Giraldo *et al.*, 2010). Sin

embargo, los datos obtenidos en esta tesis por los procedimientos ANOVA y regresión simple (Capítulo II), de los efectos de los alelos *Glu-B1e* y *Glu-B1f*, sobre los valores de SDSS, no obtuvieron diferencias significativas que apoyen a los autores citados, sobre la mejor calidad del par 13+16, con respecto al par 20x+20y.

En relación con la posible calidad panadera de otras raras combinaciones, Caballero *et al.* (2008) encontró similares valores del volumen de sedimentación (SDSS) e índice de calidad (QI), para los pares 13+16, 13+18 y 13*+16 (*Glu-B1f*, *Glu-B1at* y *Glu-B1ba*, respectivamente), en una colección de 26 líneas de espeltas. Aunque no sabemos la calidad panadera que proporciona el nuevo alelo By20, podemos esperar que proporcione baja calidad, debido a la demostrada mala calidad de la combinación 20x+20y.

Con respecto al locus *Glu-D1*, existen estudios que atestiguan que los pares de subunidades 2+12, 3+12 y 4+12 aportan peor calidad harinera al trigo (menor W, P, P/L), que el par 5+10 (no incluido en ecotipos gallegos) (Payne *et al.*, 1987; Redaelli *et al.*, 1997). Sin embargo, el par de subunidades 2+10 ha sido menos testado y no se conocen en profundidad sus características panaderas, así como los pares 5+12, 2+12* y la subunidad Dy10. En esta tesis, los datos obtenidos por análisis de varianza (Capítulo II) indican un positivo efecto significativo del alelo *Glu-D1e* (2+10), con respecto al alelo *Glu-D1a* (2+12), sobre los valores de SDSS (aunque no detectados en el análisis de regresión simple).

Sobre las subunidades 2+12, recientemente se demostró que la ausencia de la subunidad Dx2 (Gao *et al.*, 2018) retrasa el proceso de polimerización de las gluteninas durante el desarrollo del grano, afectando a la calidad del grano, ya que produce harinas de menos fuerza panadera. Por lo que se puede establecer un ranking de calidad según: 5+10 > 2+12 > 12 (Song *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Gao *et al.*, 2018;). Las subunidades 2+12 han sido substituidas en la mayoría de las variedades modernas de trigo por el par 5+10, asociada a calidad superior panificable, como se puede ver en las colecciones portuguesas y españolas de trigo posteriores a la revolución verde (Carrillo *et al.*, 1988; Igrejas *et al.*, 1999; Ribeiro *et al.*, 2011). Con respecto al raro par de subunidades 2+12*, Pogna le dio la misma calificación en la prueba de volumen de sedimentación (SDSS) que al par 2+12 (Pogna *et al.*, 1989). La influencia en la fuerza panadera del par de subunidades 2+12* parece ser similar a la ejercida por el par 2+12 (comunicación personal de Dra Rodríguez-Quijano, citado por Vargas, 2016), basado en el test del volumen de sedimentación (SDSS). Según Ribeiro *et al.* (2013), el principal factor que explica la asociación de la subunidad 5 con buena calidad panadera, es que contiene una

cisteína más en la región central repetitiva (ORF), a diferencia de otras subunidades tipo-x. Otro estudio realizado con trigos hexaploides sintéticos, mostraron que aquellos con subunidades 5+12 tenían mejor calidad panadera y mayor volumen de pan (Peña *et al.*, 1995).

Por tanto, la detección de las HMW-GS 2*, 2•• y 13+16, en la mayoría de los trigos gallegos, es indicativo de una buena calidad en buena parte de los trigos gallegos. Sin embargo, aquellas accesiones que presentan las subunidades de gluteninas HMW 20x+20y, sumadas al par 2+12 o 4+12, suponen trigos de baja calidad, con una esperada baja fuerza panadera.

También es importante citar, más allá de la calidad panadera, un trabajo de Igrejas *et al.* (2002), con poblaciones locales de trigo portuguesas, en el que demostraron que la combinación de subunidades 13 + 16 eran muy apropiadas para la calidad de las galletas, mostrando que tenían un efecto positivo en la extensibilidad y en los valores del test de Zeleny. Estos autores concluyeron que las mejores calidades las proporcionaban los perfiles: 2*/13+16/2+12, 2••/13+16/2+12 y 2••/13/2+12, que son muy habituales en los ecotipos gallegos.

Finalmente, es interesante destacar cierta similitud de los trigos espelta asturianos, con los trigos gallegos, tanto en frecuencias alélicas (2*, 13+16, y 2+12), como en existencia de alelos raros (13+18 y 13*+16), que no se han encontrado en colecciones de trigos blandos españolas, lo que podría ser debido a la pervivencia de las dos especies en cultivos mixtos, o muy cercanos, durante un mayor espacio de tiempo que en otras zonas españolas, con condiciones agroambientales muy diferentes.

4.5. DIVERSIDAD GÉNÉTICA

La falta de heterocigosidad observada en todos los individuos ($H_o = 0$), refleja una homocigosidad absoluta. Ello es debido a que el trigo es una planta autógama, por lo que su nivel de autofecundación es altísimo, y se produce muy bajo porcentaje de cruces al azar, que además en las sucesivas generaciones tiende a conseguir otra vez la homocigosidad en aquellos loci donde se produjese segregación. Ello conlleva a un valor medio del coeficiente de fijación o de endogamia total de la población (F_{IT}) de 1, al igual que cita Caballero *et al.* (2004) en trigos espelta.

Con respecto al número de alelos encontrados (24) en los tres loci, supera a los encontrados en otros estudios de ecotipos de trigo blando españoles y portugueses (Igrejas

et al., 1997; Rodríguez-Quijano *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 2002; Giraldo *et al.*, 2010; Ayala *et al.*, 2016), con 10, 17, 12, 16, y 15 alelos respectivamente. Solo lo supera, con 25 alelos encontrados, el estudio de 308 accesiones españoles de trigo blando de Rodríguez-Quijano *et al.* (1990). Dado la pequeña área geográfica comprendida en el estudio, es bastante remarcable la detección de tanta riqueza alélica, aunque buena parte de ella esté en alto riesgo de perderse al encontrarse en tan baja frecuencia. Con respecto al número efectivo de alelos (1,53) de la colección gallega, fue inferior a la citada por otros autores sobre poblaciones de trigos harineros (dos Santos *et al.*, 2012; Ayala *et al.*, 2016), pero superior a una población de espeltas (Caballero *et al.*, 2004).

La heterocigosidad media esperada es las accesiones gallegas ($H_e = 0,31$) fue similar a una colección de trigos de emmer silvestre, con $H_e = 0,35$ (Nevo y Payne, 1987), inferior a las accesiones andaluzas con $H_e = 0,51$ (Ayala *et al.*, 2016), pero superior a las espeltas asturianas (Caballero *et al.*, 2004) con $H_e = 0,16$.

La diversidad genética total encontrada en base a la composición de HMW-GS, en la colección de 199 ecotipos de trigo gallegos ($H_T = 0,269$), fue menor que las descritas en la colección de trigos blandos andaluces (Ayala *et al.*, 2016), en la colección de trigos criollos ($H_T = 0,588$) (Caballero *et al.*, 2010), y en la colección antigua de ecotipos portugueses ($H_T = 0,642$) (Ribeiro *et al.*, 2011). Ello es debido, a que en la colección gallega la H_T del *Glu-A1* es moderadamente alta, pero la H_T de los loci *Glu-B1* y *Glu-D1* es bastante baja. Aunque se hallan detectado muchos alelos en la colección gallega, la mayoría están en unas frecuencias muy bajas, y sin embargo pocos alelos tienen altas frecuencias, que son los que influyen más en el estadístico H_T . La diversidad genética total (H_T), en la colección gallega de trigo, fue similar a la encontrada en 50 poblaciones de trigos espelta asturianas ($H_T = 0,215$) (Caballero *et al.*, 2004), pero menor a otra colección de 26 poblaciones de espeltas ($H_T = 0,433$) (Caballero *et al.*, 2008).

La diversidad genética en el locus *Glu-D1a* es la menor de los ecotipos gallegos, al igual que en otros estudios de trigos harineros y espeltas (An *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2011; Ayala *et al.*, 2016).

Normalmente, la diversidad genética en los loci que codifican las gluteninas HMW es muy superior en ecotipos locales que en variedades modernas, como indica Nazco *et al.* (2012). Pero dicha diversidad se está perdiendo gradualmente, como constata un estudio sobre espeltas asturianas, en el que Caballero *et al.* (2008) constataron la pérdida de diversidad genética, al no encontrar HMW-GS que habían detectado en un trabajo anterior (Caballero *et al.*, 2001). Esta pérdida de diversidad genética ha debido producirse

probablemente en los ecotipos de trigo harinero gallegos, debido al fuerte éxodo o abandono rural, introducción de variedades de trigo semienanas de alta producción, y desplazamiento del cultivo por otros más rentables.

Como se ha sugerido en otros estudios sobre trigo espelta y emmer (Caballero *et al.*, 2001, 2004; Pflüger *et al.*, 2001), la alta frecuencia de unos pocos alelos en la colección de ecotipos de trigo gallego, junto con una frecuencia muy baja de muchos alelos, puede indicar un proceso de erosión genética comenzado décadas atrás.

Con respecto a la estructuración de la diversidad genética en la colección de trigos gallegos, se mostró que los coeficientes de diferenciación genética entre poblaciones (F_{ST} y G_{ST}) fueron de 0,56 y 0,48, respectivamente, similares al de otras poblaciones de trigos con $F_{ST} = 0,61$ (dos Santos *et al.*, 2016), pero superior a los encontradas por otros autores en trigos harineros (Caballero *et al.*, 2010; Ayala *et al.*, 2016), y en espeltas asturianas con $G_{ST} = 0,21$ y 0,17 (Caballero *et al.*, 2004; 2008).

Esto indica que las poblaciones de trigo harinero gallego han estado más aisladas, o no ha existido tanto intercambio genético entre localidades, con respecto a las poblaciones asturianas de trigos espelta.

La construcción del dendrograma de agrupación y la creación de los 17 grupos homogéneos, permite conocer la estructura de la diversidad genética existente en las poblaciones de trigo gallego. Este conocimiento supone una herramienta básica, junto con la caracterización agromorfológica y de las gliadinas del endospermo, para estudiar las posibles duplicidades existentes en la colección.





5. CONCLUSIONES



- 1.- El gran número de alelos de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, encontrados en las 199 accesiones de trigo blando evidencia un gran polimorfismo, con la presencia de 47 perfiles o patrones de gluteninas HMW.
- 2.- La frecuencia alélica de los loci *Glu-A1*, *Glu-B1* y *Glu-D1*, evidencia un claro riesgo de erosión genética, dada la alta frecuencia de unos pocos alelos, junto con una frecuencia muy baja de muchos alelos detectados en la colección de trigos gallegos, por lo que se debe preservar esta riqueza alélica, que con toda probabilidad ya no existe en los campos gallegos.
- 3.- La detección en la colección gallega de subunidades de gluteninas HMW que no se han observado en ningún estudio realizado con colecciones españolas y portuguesas de trigos harineros (2*^C, By20, 13+18, 7+17, 13+17, Dy2, Dy10, 2+10, 5+12, 2+12**), y la ausencia en la colección gallega, de otras HMW-GS comunes en la península ibérica y en Portugal (7, 7+8, 6+8, 17+18, 3+12, 5+10), indican la existencia de un pool genético separado del resto de la península ibérica, pero con una gran cercanía según la similitud en los alelos con mayores frecuencias (*Glu-A1y*, *Glu-A1b*, *Glu-B1f* y *Glu-D1a*), con la población portuguesa denominada Barbela (originaria de la zona norte de Portugal).
- 4.- La presencia de alelos de buena calidad panadera (*Glu-A1y* y *Glu-B1f*) con alta frecuencia en la colección gallega, pero poco presentes en colecciones españolas y foráneas, evidencia la posibilidad de su uso futuro en programas de mejora del trigo.
- 5.- La existencia de una estructuración entre las poblaciones de trigos gallegos, permitió realizar una agrupación en 17 grupos más homogéneos. Esta agrupación supone un paso previo a la creación de una colección núcleo de las accesiones.
- 6.- La colección núcleo futura, además de permitir conservar la mayoría de la variabilidad existente, servirá para utilizar la diversidad genética encontrada en programas de mejora genética.
- 7.- Las variedades locales mejores de la colección núcleo, podrían homogeneizarse, previa solicitud para registrarlas como variedades de conservación en la Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV).
- 8.- La caracterización agromorfológica y de HMW-GS realizada, permite utilizarla para detectar posibles duplicidades en el Banco de Cereales de Invierno, aunque se completará con un análisis de las gliadinas presentes en los ecotipos.



CAPÍTULO II: Estudio agromorfológico de ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L.



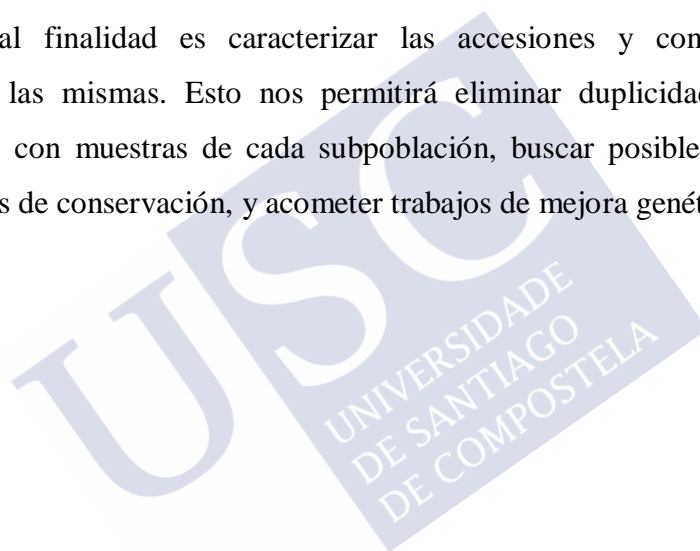


CAPÍTULO II: Estudio agromorfológico de ecotipos autóctonos gallegos de *Triticum aestivum* L.

OBJETIVO

El segundo objetivo de la tesis es realizar una caracterización agromorfológica y de calidad de grano de 110 accesiones de trigo blando de la colección del Banco de germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM, mediante el estudio de ocho descriptores agromorfológicos cuantitativos, 17 descriptores agromorfológicos cualitativos, y cuatro descriptores de calidad de grano. Se trata de un trabajo de campo, con un ensayo repetido en tres años consecutivos.

La principal finalidad es caracterizar las accesiones y conocer la estructura poblacional de las mismas. Esto nos permitirá eliminar duplicidades, diseñar mejor futuros ensayos con muestras de cada subpoblación, buscar posibles líneas a registrar como variedades de conservación, y acometer trabajos de mejora genética.







1. INTRODUCCIÓN



1. 1. ORIGEN, EVOLUCIÓN Y TAXONOMÍA DE LOS TRIGOS

1.1.1. Origen y evolución de los trigos cultivados

El trigo blando, común o panadero es una especie del género *Triticum*, incluido en la familia *Poaceae*, subfamilia *Pooideae*, tribu *Triticeae*. Los trigos cultivados están clasificados en tres principales grupos, según su dotación cromosómica: diploides (einkorn), tetraploides (emmer, trigo duro, trigo Rivet o redondillo, trigo polaco y trigo persa), y hexaploides (trigo espelta, trigo harinero, trigo club y trigo enano indio) (Feldman, 2001). Los diploides tiene el genoma AA (14 cromosomas), los tetraploides AABB (28 cromosomas), y los hexaploides AABBDD (42 cromosomas).

En la actualidad, las dos especies de mayor importancia en cuanto a la alimentación humana se refiere, son el trigo harinero (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) y el trigo duro (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*).

La existencia de las especies de trigos alohexaploides, con 42 cromosomas, se debe a un proceso evolutivo de sucesivos cruzamientos, a partir de las especies diploides, que contienen tan sólo 14 cromosomas. El primer trigo cultivado hace unos 10.000 años en la antigua Mesopotamia fue el eikorn, *T. monococcum* L. ssp. *monococcum*, que es una especie diploide. A mediados del siglo XIX se encontró la especie silvestre de la que procede el trigo eikorn cultivado, y se denominó *T. monococcum* L. ssp. *aegilopoides* (Link) Thell. Este trigo, denominado einkorn silvestre, se distingue principalmente del eikorn cultivado en que tiene el raquis quebradizo (Feldman, 2001). Posteriormente en el siglo XX, se descubriría una nueva especie del eikorn silvestre, denominada *Triticum urartu* Tumanian ex Gandilyan, que es el origen del genomio AA de los trigos tetraploides y hexaploides. Estas dos especies silvestres se encuentran de forma espontánea en campos abandonados y bordes de fincas de Irán, Iraq, Turquía, Siria, Líbano y Transcaucasia (Feldman, 2001).

Las formas alotetraploides de trigo se originaron mediante la hibridación interespecífica del eikorn silvestre, *T. urartu* (genomio AA), con una especie extinta del género *Aegilops* (sección Sitopsis) estrechamente relacionada con *Aegilops speltoides* Tausch, que fue el donante del genomio BB (Feldman, 2001). Las variedades existentes de trigos tetraploides cultivados descienden del progenitor *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*, denominado emmer silvestre, que tiene el raquis quebradizo, y que crece en un amplio rango de zonas ecológicas (Feldman, 2001). Este trigo emmer silvestre fue

domesticado en la región del Creciente Fértil, según las evidencias arqueológicas (Matsuoka, 2011), y su evolución dio origen a la especie *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (trigo emmer cultivado), más productivo que sus progenitores. Existe otra línea genética distinta (genomio AAGG), que la componen las especies tetraploides *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. ssp. *timopheevii*, y spp. *armeniicum* (Jakubz.) MacKey (tabla 26), a partir de la cual se originó el trigo hexaploide *Triticum zhukovskyi* Menabde y Ericzjan (AAGGAA), que tiene un genomio AA procedente de *T. monococcum* L. ssp. *aegilopoides* (Link) Thell. (Feldman, 2001). Estos últimos trigos tienen una distribución limitado y son endémicos de la zona Transcaucásica (Matsuoka, 2011).

Cruzamientos espontáneos posteriores del emmer cultivado (genomio AABB) con la especie diploide *Aegilops tauschii* Cosson (genomio DD), originaron el trigo alohexaploide *Triticum aestivum* L. (genomio AABBDD) (Kihara, 1944; McFadden y Sears, 1946, citado por Kishii, 2019), del que se postula que proceden todas las especies de trigos hexaploides actuales (Dvorak *et al.*, 1998).

A lo largo de la domesticación del trigo desde sus orígenes, se produjo una pérdida de diversidad genética desde *Triticum (Aegilops) tauschii* a las variedades locales, y desde éstos, a los modernos trigos cultivados hoy en día (Reif *et al.*, 2005). En los inicios de la domesticación del trigo, se postula que debió producirse un cuello de botella en la población del trigo, debido sobre todo a una selección intensiva a lo largo del tiempo en la búsqueda de las mejores características agronómicas (Reif *et al.*, 2005), y posteriormente el desarrollo de los trigos semi-enanos modernos debió sustentarse en un número limitado de parentales (Dalrymple, 1986). La diversidad genética de *Ae. tauschii* es muy superior a la diversidad del genoma D del trigo harinero, lo que posiblemente sea el resultado de pocos cruces producidos entre *Ae. tauschii* y trigos tetraploides, de los que procede el trigo hexaploide (Dvorak *et al.*, 1998; Matsuoka, 2011; Wang *et al.*, 2013).

Las variedades locales y especies silvestres afines representan fuentes útiles para ampliar la base genética del germoplasma usado en programas de mejora genética (Reif *et al.*, 2005). Para contrarrestar esta pérdida de diversidad genética, se han hecho muchos esfuerzos en las últimas décadas para conseguir ampliar la base genética del trigo a través de la introgresión de genes de otras especies afines. En este sentido, un gran número de genes han sido transferidos en las últimas cuatro décadas, desde especies como *Aegilops*, siendo *Aegilops tauschii* la que ha proporcionado la mayor parte de los genes, seguido de *Ae. speltoides* y *Ae. ventricosa* (Kishii, 2019).

Según el sistema taxonómico de clasificación de van Slageren, el género *Aegilops* contiene 23 especies. Siendo uno de los aspectos más importantes de este género, que está estrechamente vinculado genéticamente a *Triticum aestivum* L. (Kishii, 2019). *Aegilops tauschii* es la especie del género *Aegilops* más fácil de utilizar en la mejora de trigo (Kishii, 2019). Desde la década de 1980 se han venido creando una gran cantidad de líneas de trigos hexaploides sintéticos, mediante el cruce del género *Aegilops* con trigo duro, para aumentar la diversidad genética y la resistencia del trigo harinero a enfermedades, tolerancia al calor y la sequía, y mejora de calidad nutricional.

Los híbridos entre trigos hexaploides sintéticos creados, y trigos hexaploides naturales normalmente son fértiles, y por tanto es una vía para la introducción de genes de *T. turgidum* y *Ae. tauschii* en los trigos hexaploides (Peña *et al.*, 1995; Feldman, 2001).

1.1.2. Taxonomía de los trigos

A lo largo de los últimos tres siglos se han producido múltiples cambios en la denominación científica del trigo harinero. La publicación en 1753 del libro *Species plantarum* de Carl Linnaeus produjo un gran cambio en la taxonomía del género, denominando al trigo panificable como *Triticum aestivum*. Esta clasificación estaba basada en parámetros fisiológicos y morfológicos. Posteriormente el nombre científico ha cambiado en numerosas ocasiones, en las que se incluyen las siguientes (Bálint *et al.*, 2000): *T. sativum*, Lamarck, 1786; *T. vulgare*, Villars, 1787; *T. cereale*, Schrank, 1789; *T. creticum*, Mazzini, 1807; *T. muticum*, Schübler, 1818; *T. vulgare* ssp. *vulgare*, Körnicke, 1885; *Fru mentum triticum*, Krause, 1898; *T. vulgare*, Percival, 1921; *T. aestivum*, Schiemann, 1948; *T. aestivum* cultivar group *aestivum*, Bowden, 1959; *T. aestivum* ssp. *aestivum*, MacKey, 1966, 1988 y van Slageren, 1994.

Durante el siglo XX se han propuesto diferentes sistemas de clasificación del género *Triticum* (tabla 25) (Wheat Genetics Resource Center, 2020). Los esquemas históricos han influenciado de gran manera en los actuales esquemas, que difieren en el tipo de criterios que ponderan más. Por ello, se suelen dividir en una clasificación “clásica”, más basada en criterios botánicos, fisiológicos y morfológicos, y otra clasificación “genética”, que tiene además en cuenta factores genéticos.

La clasificación de Van Slageren (1994) es probablemente la clasificación basada en criterios genéticos más utilizada en la actualidad. Esta clasificación del género *Triticum*

se basa en la clasificación de Mac Key (1988), con algunos pequeños cambios, citados en la tabla comparativa 26 (Wheat Genetics Resource Center, 2020).

Tabla 25. Esquemas taxonómicos del género *Triticum*

Clasificación del género <i>Triticum</i>	
Esquemas clasificatorios actuales	Esquemas clasificatorios históricos
Dorofeev et al. 1979	Thellung 1918
Gandilyan 1980	Percival 1921
Löve 1984	Nevski 1934
Flora of Turkey 1985	Flaksberger 1935
Kimber & Sears 1987	Schiemann 1948
Kimber & Feldman 1987	Jakubziner 1958
Mac Key 1988	Bowden 1959
van Slageren 1994	Mac Key 1966
	Morris & Sears 1967

Fuente: Wheat Genetics Resource Center

Tabla 26. Esquemas taxonómicos del género *Triticum* de Dorofeev et al.(1979), Mac Key (1988) y van Slageren (1994)

Genome	Classification		
	Dorofeev et al. (1979)	Mac Key (1988)	van Slageren (1994)
A ^u	<i>T. urartu</i>	<i>T. urartu</i>	<i>T. urartu</i>
A ^b	<i>T. boeoticum</i>	<i>T. monococcum</i> subsp. <i>boeoticum</i>	<i>T. monococcum</i> subsp. <i>aegilopoides</i>
A ^b	<i>T. monococcum</i>	<i>T. monococcum</i> subsp. <i>monococcum</i>	<i>T. monococcum</i> subsp. <i>monococcum</i>
A ^b	<i>T. sinskajae</i>	—	—
BA	<i>T. aethiopicum</i>	—	—
BA	<i>T. carthlicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>carthlicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>carthlicum</i>
BA	<i>T. dicoccoides</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccoides</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccoides</i>
BA	<i>T. dicoccum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>dicoccum</i>
BA	<i>T. durum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>turgidum</i> conv. <i>durum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>durum</i>
BA	<i>T. ispahanicum</i>	—	—
BA	<i>T. jakubzineri</i>	—	—
BA	<i>T. karamyshevii</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>georgicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>paleocolchicum</i>
BA	<i>T. polonicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>polonicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>polonicum</i>
BA	<i>T. turanicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>turgidum</i> conv. <i>turanicum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>turanicum</i>
BA	<i>T. turgidum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>turgidum</i> conv. <i>turgidum</i>	<i>T. turgidum</i> subsp. <i>turgidum</i>
GA	<i>T. araraticum</i>	<i>T. timopheevii</i> subsp. <i>armeniacum</i>	<i>T. timopheevii</i> subsp. <i>armeniacum</i>
GA	<i>T. militinae</i>	—	—
GA	<i>T. timopheevii</i>	<i>T. timopheevii</i> subsp. <i>timopheevii</i>	<i>T. timopheevii</i> subsp. <i>timopheevii</i>
BAD	<i>T. aestivum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>aestivum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>aestivum</i>
BAD	<i>T. compactum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>compactum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>compactum</i>
BAD	<i>T. macha</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>macha</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>macha</i>
BAD	<i>T. petropavlovskyi</i>	—	—
BAD	<i>T. spelta</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>spelta</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>spelta</i>
BAD	<i>T. sphaerococcum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>sphaerococcum</i>	<i>T. aestivum</i> subsp. <i>sphaerococcum</i>
BAD	<i>T. vavilovii</i>	—	—
GAA	<i>T. zhukovskyi</i>	<i>T. zhukovskyi</i>	<i>T. zhukovskyi</i>

Fuente: Wheat Genetics Resource Center. www.k-state.edu/wgrc/

1. 2. LA IMPORTANCIA DE LAS VARIEDADES TRADICIONALES

El hombre ha domesticado desde hace milenios las plantas silvestres, seleccionando progresivamente aquellas características más interesantes y manteniéndolas a lo largo del tiempo mediante su cultivo.

Las variedades locales que los agricultores han estado seleccionando desde el origen de la agricultura, conservan un conjunto de genes adaptados al medio en el que se han desarrollado, de gran valor para ser introducidas en variedades comerciales a través de programas de mejora genética (Martín *et al.*, 1999). Además de los ecotipos locales, también los primitivos cultivares y especies silvestres afines, constituyen un pool de variabilidad genética que es necesario preservar, ya que son muy valiosos para conseguir trigos con mejores aptitudes, mejor adaptación a estrés climático o resistencia a enfermedades (Hammer *et al.*, 1996; Valkoun, 2001; Kishii, 2019).

Gran parte de la biodiversidad genética existente en la agricultura se ha ido perdiendo debido a la introducción de variedades de alto rendimiento, que han desplazado a las variedades locales.

Las variedades locales y los cultivares obsoletos poseen una variabilidad para diferentes genes, que no tienen las variedades modernas (Hammer *et al.*, 1996).

Aunque la preocupación por el destino de las variedades tradicionales nació antes del siglo XX, no fue hasta 1927 durante un Congreso de Agricultura Internacional, cuando la predecesora de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) recomendó a los países la conservación de las variedades locales en sus sitios de origen (Zeven, 1998).

En la década de 1960, creció el interés por la rápida desaparición de las variedades tradicionales entre muchos investigadores, como Harlan, Bennett, Hawkes, Kuckuck y Zohary (Martín *et al.*, 1999).

En 1974 fue creado el IBPGR (Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos), después conocido como IPGRI, y actualmente como BIOVERSITY, que publicó listas de descriptores para más de 100 especies cultivadas, que sirvieron de estándares para la caracterización fenotípica de las accesiones de los bancos de germoplasma.

Durante el siglo XX se realizó una amplia campaña internacional para recuperar y almacenar en bancos de germoplasma (“ex situ”), amplias colecciones de recursos genéticos locales de muchas especies.

El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB) de la ONU (1992), firmado por España en junio de 1992, obligó a los países a adoptar medidas para la conservación “ex situ” (bancos de germoplasma) de los componentes de la diversidad biológica. Aunque ya desde hacía varias décadas se había comenzado esta labor, con la creación en 1966 del primer banco de semillas español por el Profesor Gómez Campo, dedicada a la familia Brassicaceae. Aunque el principal enfoque estuvo en la colecta y conservación “ex situ” de accesiones locales, posteriormente, en la década de 1980, algunos expertos comenzaron a enfocar su atención en la conservación “in situ”.

Por definición, una variedad tradicional o población local, no es estable ni uniforme, como ocurre en los cultivares o variedades registradas. En el caso de las especies autóгамas, dicha población se compone de múltiples líneas puras o genotipos, que la selección humana y la natural, va modificando con el tiempo, incrementando las frecuencias de aquellas líneas más aptas.

Según Harlan (1975) las variedades tradicionales consisten en una mezcla de genotipos bien adaptados a una región en la cual evolucionan, normalmente reconocibles morfológicamente, y estando a su vez adaptados a los sistemas de laboreo tradicionales y a bajos niveles de fertilidad del suelo. A menudo también están asociados a tolerancia de estreses bióticos y abióticos. Son el resultado de miles de años de selección natural y artificial (humana), y suponen los recursos básicos para la mejora genética. Los ecotipos o variedades tradicionales son citados por Hawkes (1983) como poblaciones con alta diversidad y como mezcla de genotipos.

A pesar de tener esa diversidad de genotipos, una variedad local debe tener una apariencia morfológica similar (Zeven, 1998), sino sería una simple mezcla de variedades. Sin embargo, la tradición en muchas zonas de Galicia de intercambiar trigo entre parroquias o entre vecinos, juega en contra de conseguir poblaciones muy homogéneas, que deriva de la creencia local de que esa semilla “nueva” produce mejores rendimientos al llevarla a otra zona distinta. La falta de homogeneidad en poblaciones locales es algo común, como describe Caballero *et al.* (2005) sobre trigos espelta.

Dentro de las variedades tradicionales, aquellas que han sido cultivadas durante muchas generaciones en una región concreta son las que se las denomina autóctonas (Mayr, 1937, citado por Zeven, 1998).

Esta reserva de material genético recogida en bancos de germoplasma por todo el mundo, combate la erosión genética sufrida durante el último siglo, y en el futuro constituirá la base para los mejoradores de plantas, mediante el uso de genes útiles para la

agricultura y la alimentación, ya que las variedades tradicionales son una importante fuente de variación de caracteres de interés económico desde el punto de vista agrícola, ya que poseen la mayoría de la diversidad genética intra-específica de los cultivos (Zou y Yang, 1995).

Con la importancia creciente de la agricultura ecológica, con unos sistemas de menores “inputs”, deberían ser estos bancos de germoplasma una importante herramienta en los programas de mejora a la hora de obtener variedades adaptadas a ambientes menos favorables.

Para fomentar el uso de las accesiones de los bancos de germoplasma es necesario realizar con antelación un estudio agromorfológico y molecular, para que puedan ser la base genética para programas de mejora futuros. Una gran parte de las accesiones de estos bancos permanecen sin caracterizar.

Con este objetivo, un ambicioso proyecto “Seeds of Discovery” del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT), busca estudiar y caracterizar cientos de miles de semillas de trigo y maíz, almacenadas en los bancos de germoplasma de México, para poder utilizarlas en programas futuros de mejora (CIMMYT, 2021).

1. 3. LAS CASTAS DE TRIGOS EN ESPAÑA

El primero que sugirió la idea de catalogar las castas de trigo cultivadas en España fue Clemente en 1804. Ya anteriormente, en 1802, había comenzado con Lagasca a identificar las castas de trigo presentes en Madrid. A partir de 1815 los dos agrónomos comienzan a trabajar intensamente en su “Ceres Hispánica”. En 1816 Lagasca publicó “Genera at Species plantarum”, y en 1818 Clemente publica “Sobre las castas de trigo”. En esa época comenzaron a recolectar por toda España muestras para su catálogo de cereales, que fueron cultivados durante varios años, para su identificación, en el Jardín Botánico de Madrid. Aunque la publicación de la Ceres completa estaba prevista para 1819, según Clemente, no se cumplió y no se llegó a publicar. Una vez fallecido Clemente, Lagasca continua en 1827 los trabajos, realizando las láminas descriptivas de las diferentes castas. Tampoco Lagasca consiguió terminar la obra y publicarla, pero el inmenso trabajo realizado y todo el material reunido es lo que conforma la denominada Ceres Hispánica. El herbario se confeccionó y se conservó siempre en el Jardín Botánico de Madrid (Téllez y Alonso, 1952).

Posteriormente, en 1952, los agrónomos Ricardo Téllez Molina y Manuel Alonso Peña, recogieron y estructuraron todo el citado trabajo y lo publicaron en su obra “Los trigos de las Ceres Hispánica”. Otras obras de referencia en la identificación de castas de trigos es la obra “Trigos Españoles”, de Manuel Gadea Loubriel (1954) y la obra “Catálogo genético de trigos españoles” de Enrique Sánchez-Monge Parellada (1957).

Gadea en sus estudios sobre los trigos (Gadea, 1949, 1954), describía ocho especies cultivadas en España: *Triticum monococcum* L. (hoy *Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*), *Triticum dicoccum* Schülb (hoy *Triticum turgidum* L. ssp. *dicoccum* Schrank), *Triticum turgidum* L. (hoy *Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum*), *Triticum polonicum* L. (hoy *Triticum turgidum* L. ssp. *polonicum* (L.) Thell.), *Triticum durum* Desf. (hoy *Triticum turgidum* L. ssp. *durum* (Desf.) Husn.), *Triticum spelta* L. (hoy *Triticum aestivum* L. ssp. *spelta* (L.) Thell.), *Triticum vulgare* Host. (hoy *Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*), y *Triticum compactum* Host. (hoy *Triticum aestivum* L. ssp. *compactum* (Host.) Mackey). De estas ocho especies, encontró una amplia representación de *T. durum* Desf. y *T. vulgare* Host., pero describiendo el escaso cultivo de los “redondillos” (*T. turgidum* L.), y otros más difíciles de encontrar, como *T. polonicum* L. y *T. compactum* Host. De las tres variedades de grano vestido (*T. monococcum* L., *T. dicoccum* Schülb, y *Triticum spelta* L.) comentaba que aún continuaban produciéndose a gran escala, aunque en zonas concretas de la península (Gadea, 1949).

Sin embargo, Sánchez-Monge (1957) en su Catálogo de los trigos españoles, describe una especie menos, ya que no cita la *Triticum compactum* Host.

Por tanto, las tres especies más cultivadas en España a principios del siglo XX eran *Triticum aestivum* (*vulgare*), *Triticum durum* y *Triticum turgidum*. Las otras especies se cultivaban en zonas más reducidas, como *Triticum spelta* en zonas montañosas de Asturias y *Triticum diccicum* en el pirineo. Otras dos especies fueron cultivadas ocasionalmente, *Triticum monoccocum* y *Triticum polonicum* (Belderok *et al.*, 2000).

En la península ibérica ha existido siempre una gran diversidad de variedades botánicas del género *Triticum* (Belderok *et al.*, 2000), debido a su enorme rango de hábitats de cultivo distintas o zonas agroclimáticas, así como por la antigüedad de su cultura del trigo y su cercanía al lugar de origen de las especies con 28 cromosomas (Vavilov, 1935, citado por Belderok *et al.*, 2000). Gadea (1949) también menciona la gran variedad de castas o razas trigueras que existen en la península ibérica, debido a la gran variedad de zonas agroclimáticas y a la extensión del cultivo.

A pesar de ello, Gadea (1949) reflejó en sus escritos su profundo pesar por la constatación personal de la pérdida de castas o variedades autóctonas de trigo en muchas regiones, fruto de la modernización del sector, sustituyéndose las variedades tradicionales por otras más productivas.

La cultura del trigo en España continuó mucho más tiempo utilizando líneas o castas tradicionales, con respecto a otras partes de Europa, en donde la introducción de germoplasma foráneo fue anterior. Aunque en España se comenzaron programas de mejora, e introducción de trigos foráneos, en los años 50 del siglo XX, todavía en el año 2000 se seguían cultivando variedades tradicionales de trigo, especialmente en Galicia (Belderok *et al.*, 2000). Ello se debió en parte al aislamiento histórico de Galicia, a la gran parcelación del terreno o “minifundismo” existente, y la gran diferencia en condiciones agroclimáticas con respecto a las zonas españolas más cerealistas.

1. 4. LAS VARIEDADES LOCALES EN GALICIA

En Galicia existió una cultura cerealista, como lo atestiguan los numerosos yacimientos castreños prerromanos. Se han encontrado restos de varias especies de trigos: *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (*T. aestivum* ssp. *aestivum*) (trigo blando), *Triticum aestivum* ssp. *compactum* (trigo cabezorro o club), *Triticum aestivum* ssp. *spelta* (trigo espelta o escanda mayor), *Triticum turgidum* ssp. *diccicum* (escanda menor, povia o emmer), y *Triticum turgidum* ssp. *turgidum* (trigo poulard, rivet o redondillo), así como de otros cereales: *Hordeum vulgare* L. (cebada), *Secale cereale* L. (centeno), *Panicum miliaceum* L. (mijo) y *Avena spp.* (avena). En la producción cerealista, tuvo amplia predominancia el trigo, sobre otros de menor importancia como la cebada, el centeno y el mijo (Ramil-Rego, 1993). Las primeras muestras polínicas y carpológicas de trigos se encontraron en estratos del final de la era neolítica (2.300-2070 a.C) en el castro de “Prado do Inferno” (Muras, Lugo), aunque es entre el siglo VII y VI a.C., cuando se detecta un importante desarrollo de la producción agrícola, como se observó en el Castro de Penalba (Aira *et al.*, 1990; Ramil-Rego, 1993).

En la obra “Los trigos de las Ceres Hispánica” (Téllez y Alonso, 1952), las referencias a trigos procedentes de Galicia en el herbario realizado por Lagasca y Clemente a inicios del s.XIX, se reducen a tres ejemplares de trigos tetraploides, vulgarmente conocidos como “redondillos” y actualmente clasificados como *Triticum turgidum* L.: en concreto, dos *Triticum linneanum* Herrera imberbe Lag. (“Navarrés”) y

un *Triticum turgidum* L. *compositum farclum* (“Racimal”), en los pliegos nº1.341, 1.342 y nº1.417, respectivamente. Los primeros con glumas lampiñas y rojas, y el último con glumas vellosas y rojas.

A mediados del s.XIX, José Planellas Giralt incluye seis especies del género *Triticum*, dentro de su obra “Ensayo de una flora fanerogámica gallega” (1852): *Triticum sativum* Lam. (hoy *T. aestivum* L. ssp. *aestivum*), *Triticum repens* L.; *Triticum junceum* L., *Triticum pinnatum* Moench., *Triticum sylvaticum* Moench. Sobre el trigo redacta “en todas partes el trigo, el centeno, la cebada, suministran sus semillas nutritivas; el maíz abunda y el mijo y el panizo (*Setaria itálica* (L.) P. Beauv.) son en muchos puntos objeto de cultivo”.

Entre 1905 y 1909, se publican los tres tomos de la obra “Flora descriptiva e Ilustrada de Galicia”, realizada por Baltasar Merino Román, miembro de la Sociedad Española de Historia Natural. En el Tomo III describe los trigos cultivados en Galicia (Merino, 1909), constatando que ninguno es de grano vestido, sino de grano desnudo y raquis tenaz. Merino engloba a todos los trigos de Galicia en una única especie de trigo, *Triticum vulgare* Villars (hoy *T. aestivum* L.), con 3 variedades distintas. La primera de tallo hueco, var. *sativum* (hoy *T. aestivum* L. ssp. *aestivum*), y las otras dos de tallos macizos, var. *turgidum* (hoy *Triticum turgidum* L. ssp. *turgidum*) y var. *durum* (hoy *Triticum turgidum* L. *durum* Desf.). Esta sería la última alusión bibliográfica a trigos duros cultivados en Galicia.

En el libro “Trigos Españoles” de Gadea (1954), aparecen descritos 15 trigos recogidos en Galicia, todos eran *Triticum aestivum* L., de los cuales once eran de la variedad *erythrospermum* (Bergantiños, tres Grandal, Marceño, Marzal, Ordenes, dos Rojo, Serodio, Trigo del País), tres de la variedad *ferrugineum* (Mariñas, Vigo cañifino y Vigo cañigrueso), y uno de la variedad *barbarossa* (Monte velloso). Y los califica de muy buena calidad panadera (1), buena calidad (9), mediana calidad (4) y mala calidad (1), según el método Pelschenke.

De los pocos trigos gallegos descritos por Sánchez-Monge (1957) en su “Catálogo genético de trigos españoles”, todos eran *Triticum aestivum* L. Cuatro de ellos eran de la variedad botánica *ferrugineum* (tres grandal y un marceño de Pontevedra), y dos de la variedad *erythrospermum* (Bergantiños y Pontevedra). Con respecto a la mayoría de los nombres vulgares utilizados para designar a las castas de trigos, todas ellas tienen un reflejo en alguna cualidad morfológica o fisiológica de la variedad (Sánchez-Monge, 1957).

En el caso de Galicia, los nombres más usados para denominar a las variedades tradicionales también aluden a la época de siembra (Marceño, Marzal, Temperán, Tremesino, Serodio), alguna característica fisiológica (Rubio, Roxo (rojo), Grandal, Cañifino, Cañigrueso) o a la zona en donde se cultivaba (País, Bergantiños, Mariñas, de monte, de agra, do rego, do campo). Los que aluden a la época de siembra, y por tanto a la fenología del ecotipo, no están relacionados con las distintas variedades botánicas, como se muestra en los estudios de Sahuquillo y Fraga (1991). Sánchez-Monge (1957) describe diversos trigos con la misma denominación “Marzal, Marceño y Tremesino”, que son variedades botánicas distintas, e incluso especies distintas (al igual que pasa con los nombres vulgares: Chamorro o Mocho, Jeja, Colorado, Candéal, Barbilla, Blanquillo). Uno de los nombres más utilizado en Galicia es “grandal”, en este caso aludiendo a la gran espiga que tenían, según Sánchez-Monge (1957).

Los resultados de los estudios de Sahuquillo y Fraga (1991), en las 121 muestras de trigo autóctono recolectadas, evidencian que la única especie cultivada de trigo en Galicia en los años 80 del siglo XX era *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* (hoy *Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*), con distintas variedades botánicas, y no encuentran rastro de las variedades tetraploides citadas en siglos anteriores, ni de variedades de trigo vestido, como las espeltas y escandas.

Aunque la mayoría de las especies ya no se cultiven en Galicia, existiendo escasas accesiones de avena y cebada autóctona en el Banco de Germoplasma del CIAM, todavía perviven en el medio rural poblaciones locales de trigo (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) y centeno (*Secale cereale* L.). Debido sobre todo al minifundismo existente en Galicia, al parcial aislamiento natural del resto de España, y en mayor medida a los tradicionales trueques de agricultores con panaderos locales, hasta la actualidad se ha conseguido preservar localmente una buena parte de los genotipos de trigo panificable que se cultivaban antaño. Hasta los años 60 del siglo XX, en la mayoría de las parroquias se seguía cultivando “el trigo del país”, como se suele denominar en Galicia a las poblaciones locales de trigo blando o hexaploide, de talla alta (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*), y constituía parte de la mayoría de las rotaciones tradicionales (Oliveira *et al.*, 2000). Lo que diferenciaba al cultivo del trigo en Galicia, con relación a otras regiones españolas, era la mayor utilización de ecotipos autóctonos, o “trigo país”, que jugaban un papel importante en el sector harino-panadero (Oliveira y Gómez-Ibarlucea, 1997), por la buena calidad de algunos trigos como el denominado grandal (Silvela, 1941). El final del modelo de agricultura tradicional, hacia una agricultura más orientada al comercio, y el

abandono de las actividades agrarias han constituido las principales amenazas para estas variedades tradicionales.

Durante el proceso de cambio de agricultura gallega, la especialización ganadera, que no se basó en un aumento significativo de las producciones gallegas para generar alimentación para el ganado, sino en la importación de alimentos, y la especialización forestal maderera, han desarrollado un modelo productivo de menos vinculación con el territorio, lo que ha generado un problema de sostenibilidad debido al abandono de tierras (Soto, 2015).

El gran cambio agrario, comenzado en la década de los 60, hacia una intensificación ganadera en el medio rural, con la sustitución de los prados naturales y cultivo de cereales y leguminosas, por praderas artificiales y cultivos forrajeros, produjo un descenso notable de la superficie dedicada al trigo en Galicia, que pasó de 41.500 ha en 1965 a un mínimo de 12.550 ha en 2019 (AEA, MAPA 1945-2019 y AEA, Xunta de Galicia 1991-2019).

Con la desecación de la laguna de Antela, en Xinzo de Limia, y posterior parcelación agraria, se comenzó a producir el trigo en grandes parcelas y a introducir variedades foráneas de talla baja, que portaban ya los primeros genes de enanismo *Rht-B1b* y *Rht-D1b*. Esto produjo un gran cambio en la producción por provincias, desplazándose desde A Coruña y Lugo (85% en 1960), a Ourense (64% en 2019) (AEA, MAPA 1945-2019 y AEA, Xunta de Galicia 1991-2019).

A pesar de este cambio en el modelo agrario, gracias a la coexistencia de una agricultura no profesionalizada, a tiempo parcial, en parcelas de reducida dimensión, y al interés de la panadería local, aún se siguieron cultivando numerosos ecotipos locales en muchas zonas de Galicia, como lo atestigua la recolección realizada por el CIAM.

La importancia del norte de España para los recursos genéticos de trigo llevó al IBPGR a declarar la zona como zona prioritaria para la recolección de trigo destinada a los bancos de germoplasma (Chapman, 1985).

En Galicia se realizaron algunos trabajos de caracterización botánica y agronómica de ecotipos de trigo autóctono, Sahuquillo y Fraga (1991) y Oliveira *et al.* (2000), aunque no se llegó a crear ningún Banco de germoplasma a partir de las accesiones recolectadas. Fue a partir de 1996, cuando el CIAM comienza a desarrollar varios proyectos de investigación centrados en los ecotipos de trigo, y partir de los cuales se realiza la recolección, desde 2002 a 2016 de las accesiones que en la actualidad forman parte del Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM (Urquijo, 2018).

A partir de una encuesta (no publicada) realizada por el CIAM en 2017, se constató que más del 70% de los agricultores que cedieron grano de trigo en la expedición de 2009, para el Banco de Germoplasma, habían abandonado el cultivo del trigo autóctono, debido a la falta de relevo generacional en el campo. Esta situación describe perfectamente el peligro de extinción de genotipos, denominado “erosión genética”, y es lo que justifica el trabajo de recolección realizado para crear el Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del CIAM.

A pesar de ello, la regeneración y almacenamiento posterior de las accesiones en los bancos de germoplasma pueden producir una pérdida de la heterogeneidad inherente a dichas accesiones (Steiner *et al.*, 1997; Börner *et al.*, 2000), por lo que su uso “in situ” sería recomendable. Para la conservación “in situ” de las variedades locales, se deberían seguir cultivando en parcelas bajo sistemas tradicionales de cultivo, en sus hábitats originales o entornos naturales, haciendo un uso sostenible de los recursos, como indica el CDB (1992).

La reciente publicación en el Diario Oficial de la Unión Europea (DOUE 20/12/2019) de la inscripción de la Indicación Geográfica Protegida (IGP) “Pan Galego/Pan Gallego”, en el “Registro de Denominaciones de Origen Protegidas y de Indicaciones Geográficas Protegidas”, potenciará el uso de variedades locales, ya que dicha IGP obliga al uso de harinas elaboradas en parte con trigos autóctonos. Este hecho podría revertir en parte la tendencia a la desaparición de las variedades locales, aunque también existe el riesgo de que las variedades locales todavía existentes puedan ser desplazadas por las dos variedades autóctonas, Callobre y Caaveiro, registradas en la Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV). Se hace indispensable, por tanto, el registro de nuevas variedades de conservación, para evitar que el aumento del cultivo se haga en base tan sólo a dos variedades.

De cualquier forma, la IGP “Pan Galego/Pan Gallego” y el creciente interés por los productos locales, tendrá gran importancia futura en la preservación de estos trigos antiguos.

1. 5. INTRODUCCIÓN DE GERMOPLASMA FORÁNEO

Aunque no está demostrado el uso de trigos foráneos por los agricultores gallegos antes de la “revolución verde”, existe la posibilidad de su introducción en la agricultura gallega a partir de ciertos hechos.

Primero, la introducción a partir de 1885, en diversos Centros de Experimentación en España, de algunas variedades de trigos extranjeros seleccionados a partir de mediados del siglo XIX (en Gran Bretaña, Francia, Holanda, Alemania, Suecia, Bélgica, Italia y EE.UU.) (Pujol, 1998). Incluso algunos ensayos se realizaron en La Granja Agrícola Experimental de La Coruña con trigos extranjeros en la década de 1890 (Fernández, 1988). Fruto de estos ensayos, en 1902 Alvarez Muñiz recomienda las variedades de trigo: Gigante de Milán, Colorado de Brie, Rieti (Italia) y Blanco de Nápoles (Fernández, 1988). Leopoldo Hernández Robredo continuó con los ensayos de 1906 a 1919, y experimentó con más de veinte variedades, obteniendo los mejores rendimientos con el País seleccionado, País de doble selección, Rieti e híbrido de Champlan (Fernández, 1988).

Segundo, aunque la mayoría de las variedades extranjeras no tuvieron éxito debido a su mala adaptación (Fernández, 1988), alguno de ellos llegó a tener cierta repercusión en algunas zonas españolas, como el Rieti (Italia), Mentana (Italia), Senatore Capelli (Italia), Florence Aurora (Francia), Manitoba (Canada) y Red Rife (EE.UU.) (Sancho, 1949; Pujol, 1988).

Tercero, también llegaron a tener bastante repercusión selecciones hechas en España en la primera mitad del siglo XX, de poblaciones autóctonas de trigos de talla alta, como el “Aragón 03”, Pané 247 y Candeal Alcalá. Y otros como Cabezorro, Canaleja, J-1, L-4, Negrete, Quaderna, Orgaz, Terminillo, Granja Badajoz, Traquejos (Salazar y Vigil de Quiñones, 1958). El “Aragón 03” se llegó a cultivar en más de 20 provincias españolas, y entre las mejores variedades disponibles, estaban los candeales de castilla y el Candeal de Arévalo, la Jeja corriente, Chamorro y Negrillo (Pujol, 1988).

Por tanto, estando el mercado del trigo nacionalizado y controlado por el Servicio Nacional del Trigo, es posible que algunas de las variedades mencionadas se trataran de cultivar a mayor escala en Galicia, aunque no se encontró constancia documental sobre el uso, por parte de agricultores gallegos, de variedades foráneas de talla alta antes de 1980 (a partir de cuándo se empezaron a introducir trigos semienanos), y tampoco se ha encontrado en los nombres de las variedades tradicionales de trigos locales recolectados ninguna relación con los nombres de otros ecotipos de trigos de fuera de Galicia. Además, tampoco se han encontrado en ninguna parroquia gallega ecotipos sin barba, denominados mochos, tan comunes en castilla, ni se detectaron en las accesiones algunos de los perfiles de HMW-GS más comunes en las variedades tradicionales de otras regiones españolas.

Todo ello, sumado a la pequeña dimensión del cultivo de trigo en Galicia, al gran autoconsumo y a los intercambios con la panadería local (trigo por pan), hace concluir que no parece que ningún trigo foráneo se estableciese en Galicia a gran escala, fuera de alguna experiencia anecdótica.

1. 6. LAS VARIEDADES BOTÁNICAS

El amplio estudio taxonómico llevado a cabo, a principios del siglo XIX, por los botánicos Mario Lagasca y Simón de Rojas Clemente, describiendo las diferentes “castas” de trigos cultivadas en España, y reunidas en su herbario de la “Ceres Hispánica”, permitió posteriormente a Téllez y Alonso clasificar la colección del herbario en 22 variedades botánicas, siguiendo la sistemática varietal de Körnicke, con las modificaciones de Percival y Flaksberger. Esta clasificación estaba basada en cuatro parámetros morfológicos: presencia o ausencia de barbas o aristas, vellosoidad de las glumas, color de las glumas y color del grano (Téllez y Alonso, 1952).

Aunque existen múltiples parámetros morfológicos para caracterizar los trigos, aquellos que permiten diferenciar mejor las variedades botánicas, y por tanto con mayor valor taxonómico, son el color y la vellosoidad de las glumas. Son caracteres muy estables que se mantienen constantes dentro de cada variedad (Sahuquillo y Fraga, 1991). Junto con aquellos, también son de gran importancia la presencia de barbas o aristas, y el color del grano.

La siguiente clave (figura 19) permite diferenciar fácilmente las variedades presentes en Galicia, siendo una simplificación de la clave de Téllez y Molina (1952) para la especie *Triticum vulgare* Vill. (hoy *T. aestivum* L. ssp. *aestivum*), al no existir trigos mochos (sin barbas), ni granos blancos (Sahuquillo y Fraga, 1991).

Esta clasificación botánica, para diferenciar las diferentes “castas” de trigo también fue utilizada por los agrónomos Enrique Sánchez-Monge Parellada y Manuel Gadea, en sus libros “Catálogo Genético de Trigos Españoles” (1957) y “Trigos Españoles” (1954), respectivamente.



Figura 19. Esquema de las variedades botánicas en Galicia

Como se muestra en la figura 19, y atendiendo a la revisión de la clasificación taxonómica realizada por Rudolf Mansfeld en 1951 (Sánchez-Monge y Villena, 1952), las variedades botánicas de *Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum* en Galicia, son: *erythrospermum* (Körn.) Mansf., *ferrugineum* (Alef.) Mansf., *hostianum* (Clem.) Mansf y *barbarossa* (Alef.) Mansf.



2. MATERIAL Y METODOS



2.1. MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El material de investigación comprende 110 accesiones autóctonas de trigo blando, recogidas a lo largo de toda Galicia del 2003 al 2010 (Anexo 2), y almacenadas en el Banco de Germoplasma de Cereales de Invierno del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM), perteneciente a la Agencia Gallega de Calidad Alimentaria (AGACAL). Cuatro de las accesiones incluidas (68, 194, 195 y 196), son líneas mejoradas a partir de ecotipos recogidos, y se utilizaron como testigos. La línea 68 se registró como variedad comercial denominada “Callobre” en el año 2006, y la línea 195 como variedad de conservación con el nombre de “Caaveiro” en 2015.

Los ecotipos fueron sembrados en unidades experimentales de una fila de 3 m de largo, separadas 0,5 m de las adyacentes, a una densidad de 80 semillas/m². Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, y durante las campañas agrícolas 2011/2012, 2012/2013 y 2013/2014. Los ensayos se realizaron en las fincas del CIAM (Mabegondo – Abegondo - A Coruña) (43° 14' N, 8° 15' W), a 12 km de la costa y a una altitud de 100 m s.n.m., en suelos franco-limosos.

Debido al alto porcentaje de encamado que suelen padecer los ecotipos autóctonos, fueron cultivados en un régimen de bajo “input” nitrogenado, y en siembras de mediados a finales de invierno (25/01/2012; 20/02/2013; 11/03/2014), siendo recolectados a mediados de agosto. La fertilización aplicada los 3 años consistió en 36-72-108 kg/ha (N-P₂O₅-K₂O). La fertilización tradicional no suele incluir abonados de cobertera para evitar mayores encamados.

2.2. CLIMATOLOGÍA

Las condiciones climáticas (temperatura y precipitación), de las parcelas de ensayo se obtuvieron a partir de los datos climáticos de la estación meteorológica más próxima, situada en la misma finca del CIAM, situada en Mabegondo - Abegondo (A Coruña).

Aunque las siembras fueron programadas para finales de enero, las fuertes precipitaciones de enero y febrero (figuras 14, 15 y 16) retrasaron las siembras del 2º y 3º año. El clima fue idóneo en la primera campaña, excesivamente húmedo la segunda campaña y algo seca la tercera campaña.

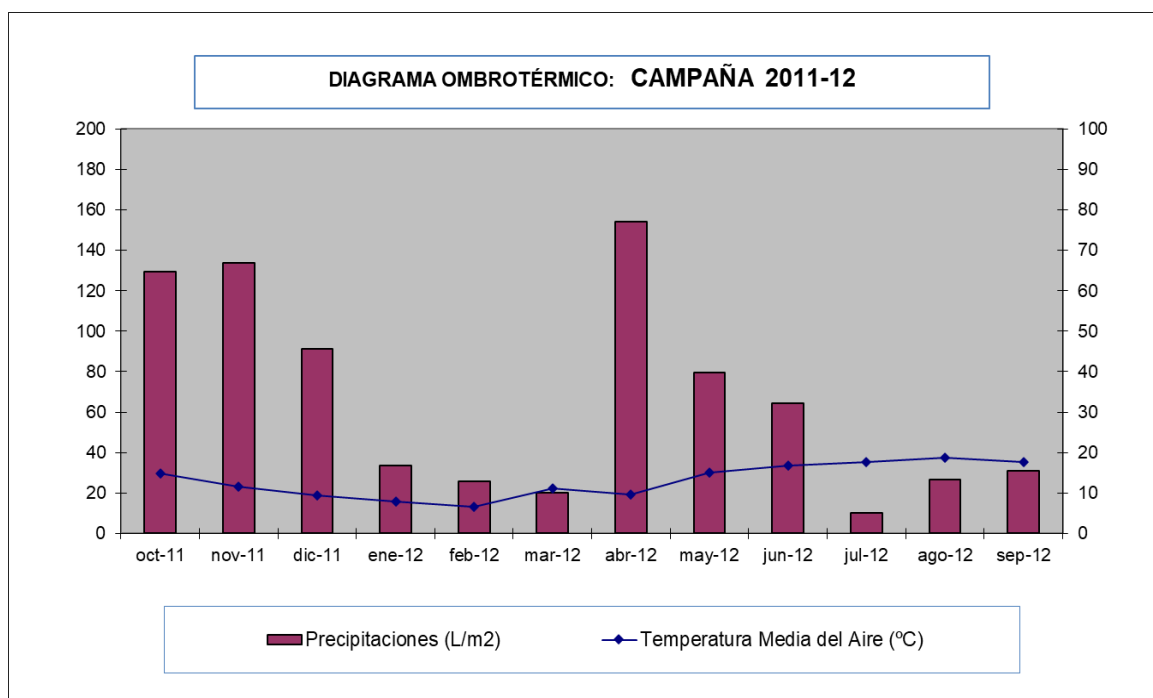


Figura 20. Diagrama ombrotérmico de campaña 2011-12 (Estación Mabegondo)

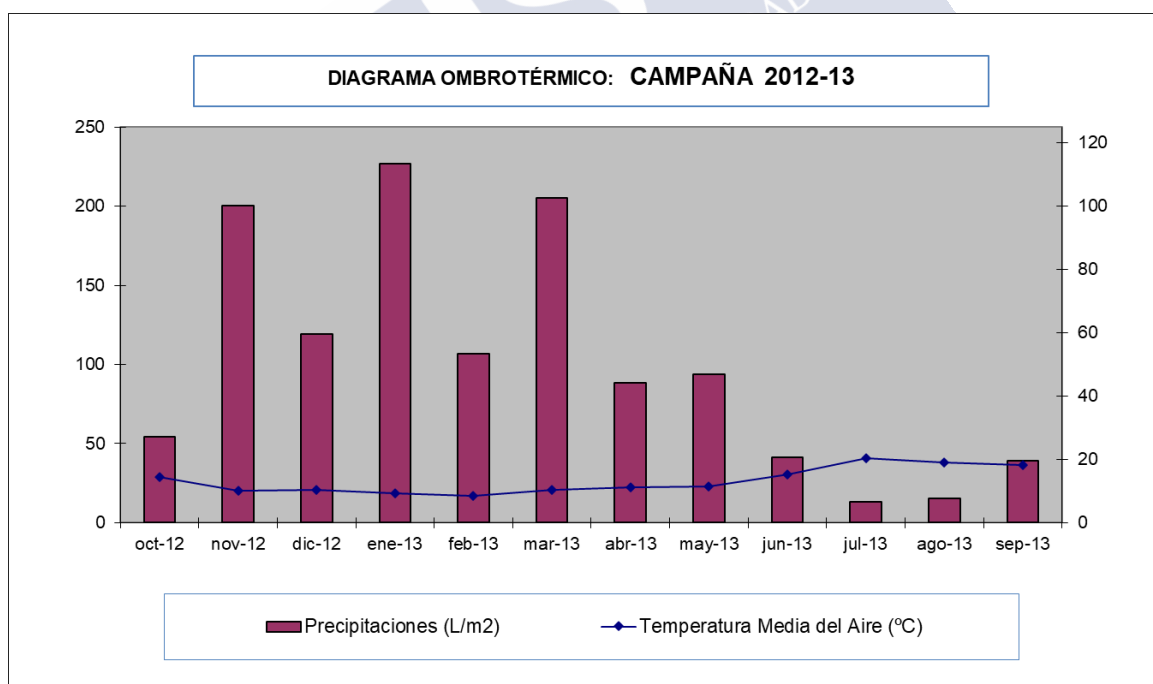


Figura 21. Diagrama ombrotérmico de campaña 2012-13 (Estación Mabegondo)

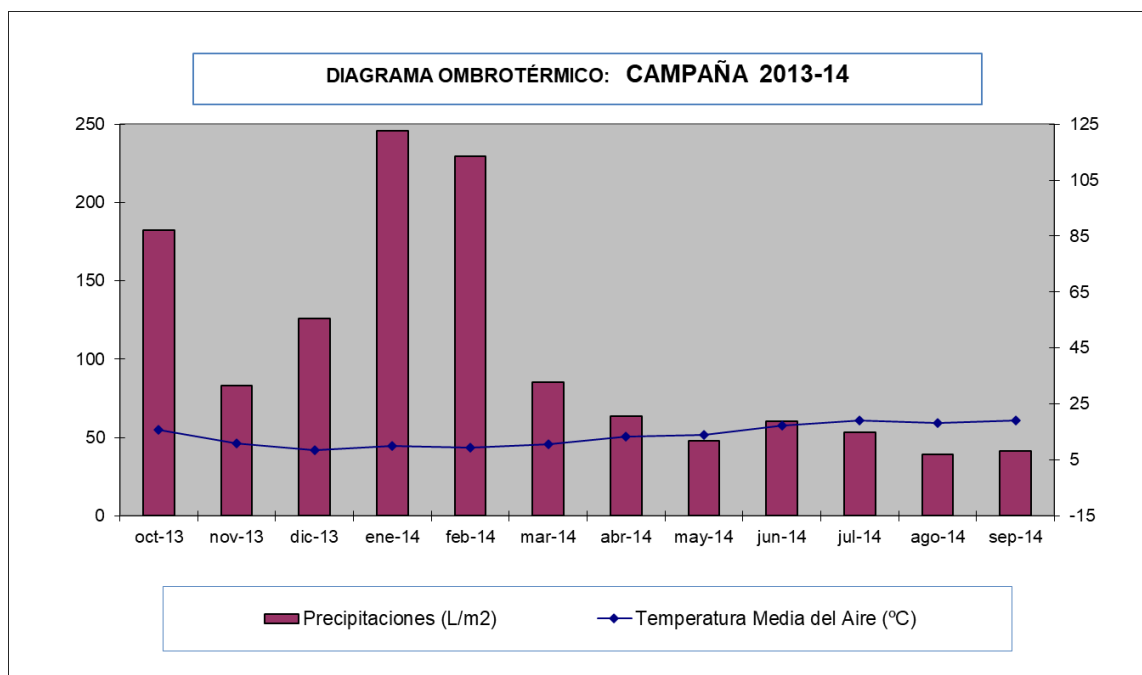


Figura 22. Diagrama ombrotérmico de campaña 2013-14 (Estación Mabegondo)

2.3. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA

Los descriptores cualitativos agromorfológicos de cada accesión se obtuvieron de cinco espigas representativas, recolectadas de cada fila y en cada repetición, para poder detectar posible heterogeneidad dentro de cada ecotipo.

Los 17 descriptores agro-morfológicos cualitativos utilizados para evaluar cada accesión, basados en los descriptores del IBPGR (1985) y de la UPOV (1994), fueron los siguientes (Tabla 27): longitud del pico de la gluma (GLONP), forma del pico de la gluma inferior (GFORP), color de las glumas (GCOL), vellosoidad interna (GIVELL) y externa de la gluma (GEVELL), forma de la gluma inferior (GFOR), anchura del hombro de la gluma inferior (GANC), forma del hombro de la gluma inferior (GFHO), longitud de las barbas (BLON), color de las barbas (BCOL), rugosidad de las barbas (BRUG), tamaño del grano (STAM), color del grano (SCOL), forma del grano (SFOR), color del tallo en espigado (TCOL), sección del tallo (TSEC) y hábito de crecimiento (HCRE).

Tabla 27. Descriptores agromorfológicos cualitativos

Parámetro	Descripción	Valores
BCOL	Color de las barbas	1: blancas; 2: negras en la base; 3: negras; 4: rojas a marrones.
BLON	Longitud de las barbas (cm)	1: ausencia; C: ausencia por caducas; 2: semiaristadas 1-3cm; 3: aristadas 3-8cm; 4: aristas largas >8cm
BRUG	Rugosidad de las barbas	1: ásperas; 2: lisas.
GANC	Anchura del hombro de la gluma inferior	3: estrecho; 5: medio; 7: ancho
GCOL	Color de la gluma	1: Blanco; 2: Rojo/marrón; 3: Púrpura a gris/negro.
GEVELL	Vellosidad externa de la gluma	0: lampiña; 3: pubescente; 7: vellosa (pelos muy largos).
GFHO	Forma del hombro de la gluma inferior	1: Inclinado; 3: liger.inclinado; 5: recto; 7: elevado; 9: con 2º pico
GFOR	Forma de la gluma inferior	1: Redondeada; 3: redondeada-ovoide; 5: ovoide; 7: ovoide-alargada; 9: alargada
GFORP	Forma del pico de la gluma inferior	1: Recto; 3: Ligeram.curvado; 5: Medianam.curvado; 7: Fuertem.curvado; 9: Acodado
GIVELL	Vellosidad interna de la gluma	3: debil; 5: media; 7: fuerte.
GLONP	Longitud de pico de la gluma inferior	1: Muy corto (<1mm); 3: Corto (1-2mm); 5: Medio (2-5mm); 7: Largo (5-10mm); 9: Muy largo (>10mm)
HCRE	Habito de crecimiento	3: Postrado; 4: Semi-postrado; 5: Medio; 6: Semi-erecto; 7: Erecto.
SCOL	Color de la semilla	1: Blanco/Amarillo; 2: Rojo/Pardo; 3: Púrpura.
SFOR	Forma del grano	1: Redondeado; 3: Ovoide; 5: Alargado
STAM	Tamaño de la semilla	3: Pequeña 0,6cm; 5: Intermedia 0,8cm; 7: Larga 1cm; 9: Muy larga 1,3cm
TCOL	Color del Tallo, del ultimo nudo a la espiga	1: Amarillo pajizo; 2= Rojo-púrpura
TSEC	Sección del tallo	3: Hueco; 5: medio macizo; 7: macizo

A continuación, se describen los descriptores utilizados y los niveles de expresión medidos en campo, sobre las plantas y espigas de trigo.

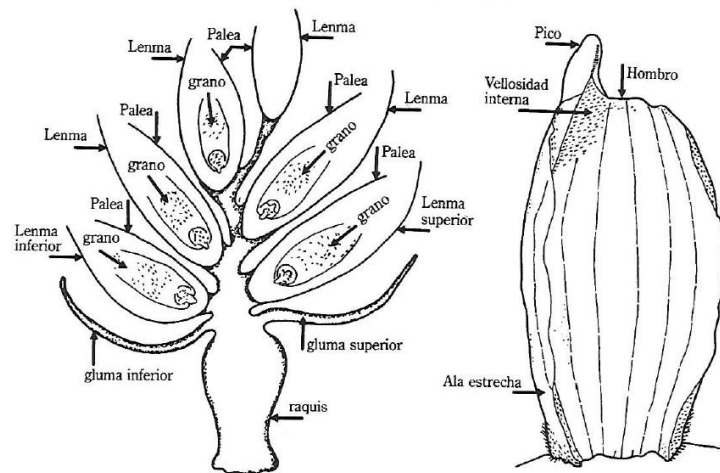


Figura 23. Representación de una espiguilla y gluma de trigo

2.3.1. Longitud de pico de la gluma inferior (GLONP)

Para medir longitud del pico de la gluma, se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga, y en la gluma inferior se mide el pico o diente. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks *et al.*, 1974), que corresponde a la fase final de maduración del grano.

Niveles de expresión: 1, Muy corto (<1mm); 3, Corto (1-2mm); 5, Medio (2-5mm); 7, Largo (5-10mm); 9, Muy largo (>10mm).

2.3.2. Forma del pico de la gluma inferior (GFORP)



Figura 24. Niveles de forma del pico de la gluma (UPOV, 1994)

Para visualizar la forma de pico de la gluma inferior, se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga, y en la gluma inferior se ve la forma que tiene el pico o diente. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figura 24): 1, Recto; 3, Ligeramente curvado; 5, Medianamente curvado; 7, Fuertemente curvado; 9, Acodado

2.3.3. Color de las glumas (GCOL)

El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 1, Blanco/amarillo; 2, Rojo/marrón; 3, Púrpura a gris/negro (ver figura 25).

Las variedades botánicas *erythrosperrum* y *hostianum* son amarillas, y las variedades *ferrugineum* y *barbarrosa* son rojas.



Figura 25. a) Gluma blanco/amarillo b) Gluma rojo/marrón

2.3.4. Vellosidad interna de la gluma (GIVELL)



Figura 26. Niveles de vellosidad interna de la gluma (UPOV, 1994)

Para medir la vellosidad interna de la gluma, se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga, y en la parte interna de la gluma inferior se visualiza el área cubierta de pelos. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figura 26): 3, débil; 5, media; 7, fuerte

2.3.5. Vellosidad externa de la gluma (GEVELL)

Para medir la vellosidad externa de la gluma, se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga, y en la parte externa de la gluma se visualiza la presencia o ausencia de pelos. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figura 27): 0, lampiña; 3, pubescente; 7, vellosa. El último nivel no se utilizó, al ser difícil separar el nivel pubescente, del vellosa.



Figura 27. a) Gluma vellosa y lampiña

b) Gluma vellosa

2.3.6. Forma de la gluma inferior (GFOR)

Se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga. Niveles de expresión: 1, redondeada; 3, redondeada-ovoide; 5, ovoide; 7, ovoide-alargada; 9, alargada (ver figura 28). El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).



Figura 28. Distintas formas de gluma, anchura y forma de hombro

2.3.7. Anchura del hombro de la gluma inferior (GANC)



Figura 29. Niveles de anchura del hombro de la gluma (UPOV, 1994)

Para ver la anchura del hombro, se escoge la gluma inferior de una espiguilla del tercio central de la espiga. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figuras 29 y 28): 1, ausente o muy estrecho; 3, estrecho; 5, medio; 7, ancho; 9, muy ancho.

2.3.8. Forma del hombro de la gluma inferior (GFHO)



Figura 30. Niveles de forma del hombro de la gluma (UPOV, 1994)

Para visualizar la forma del hombro de la gluma inferior, se escoge una espiguilla del tercio central de la espiga, y en la gluma inferior se anota la forma que tiene. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figuras 30 y 28): 1, inclinado; 3, ligeramente inclinado; 5, recto; 7, elevado; 9, muy elevado con presencia de 2º pico

2.3.9. Longitud de las barbas (BLON)

Se mide en cm, y después se escoge el rango en el que se encuentra. Para la medición, se escogen barbas del tercio central de la espiga. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 1, ausencia; C, ausencia por caducas; 2, semiaristadas 1-3cm; 3, aristadas 3-8cm; 4, aristas largas >8cm. Valor medio de 5 espigas principales tomadas al azar, medido en el tercio central de la espiga.

2.3.10. Color de las barbas (BCOL)

El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 1, blancas; 2, negras en la base; 3, negras; 4, rojas a marrones.

2.3.11. Rugosidad de las barbas (BRUG)

El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 1, ásperas; 2, lisas.

2.3.12. Forma del grano (SFOR)

El momento para realizarlo es en el estadio 92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 1, Redondeado; 3, Ovoide; 5, Alargado

2.3.13. Tamaño del grano (STAM)

Se midieron en cm, granos de 5 espigas de cada línea. El momento para realizarlo es en el estadio 92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión: 3, Pequeña 0,6cm; 5, Intermedia 0,8cm; 7, Larga 1cm; 9, Muy larga 1,3cm (solo para *T. turgidum*).

2.3.14. Color del grano (SCOL)

Niveles de expresión: 1, Blanco/Amarillo; 2, Rojo/Pardo; 3, Púrpura. Se usó la prueba del NaOH, propuesta por la UPOV (1994), colocando 25 granos en placa Petri más 25 ml NaOH 5% durante 60-90m. El momento para realizarlo es en el estadio 92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Los granos que son rojos se ponen marrón-anaranjado oscuro, y los granos blancos se tornan amarillentos.

2.3.15. Color del tallo (TCOL)

Se mide en el pedúnculo de la espiga, la zona entre la espiga y el primer nudo por debajo. El estado fenológico óptimo es en la madurez fisiológica, cuando el tallo y la espiga pierden su tonalidad verdosa, y antes de que tomen su color pajizo definitivo. En ese momento el tallo puede tomar la coloración amarilla o rojiza.

Niveles de expresión: 1, amarillo; 2, rojizo



Figura 31. a) Color amarillo del tallo b) Color rojo del tallo

2.3.16. Sección del tallo (TSEC)

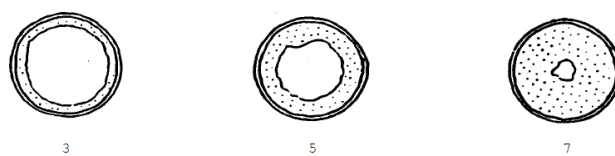


Figura 32. Niveles de sección del tallo (UPOV, 1994)

Para calcularlo, se corta a media distancia entre la base de la espiga y el primer nudo por debajo. Se observan todos los tallos de la planta y se anota la expresión más fuerte. El momento óptimo para realizarlo es entre los estadios 80-92 de Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

Niveles de expresión (ver figura 32): 3, hueco; 5, medio macizo; 7, macizo

2.3.17. Hábito de crecimiento (HCRE)

El estado fenológico óptimo para la toma de datos es desde mitad al final del período del ahijado, y antes de que encañe la planta. El hábito de crecimiento se evalúa visualmente, y se anota el nivel que más se ajusta a la inclinación de los hijuelos y hojas exteriores de la planta con respecto a un imaginario eje vertical.

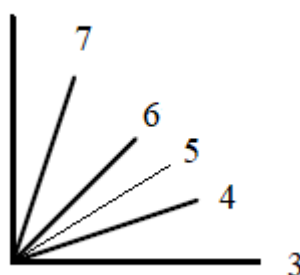


Figura 33. Niveles de hábito de crecimiento (basado en UPOV, 1994)

Niveles de expresión (ver figura 33): 3, Postrado; 4, Semi-postrado; 5, Medio; 6, Semi-erecto; 7, Erecto.

2.4. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DE LAS ACCESIONES

De los parámetros descritos previamente en la tabla 13, para la clasificación botánica de las accesiones siguiendo el criterio de Lagasca y Clemente (Téllez Molina y Alonso Peña, 1952), se usaron los siguientes: color de la gluma (GCOL), vellosoidad externa de la gluma (GEVELL), presencia o ausencia de barbas, y color de grano.

Esta clasificación nos permite comparar las variedades botánicas existentes en Galicia, con respecto a las descritas por Lagasca y Clemente en el conjunto de la península Ibérica a principios del siglo XIX.

Como existe variabilidad dentro de cada ecotipo, en lo que respecta a las variables que definen las variedades botánicas, usamos la descripción cualitativa de cada espiga individual seleccionada (6.600 unidades), para realizar un análisis de Kruskal-Wallis, para detectar posibles diferencias morfológicas (aparte de las cuatro usadas para describir la variedad botánica) entre las variedades botánicas *erythrospermum*, *ferrugineum*, *hostianum* y *barbarossa*.

2.5. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUANTITATIVA

Los ocho descriptores agromorfológicos cuantitativos utilizados para evaluar cada accesión, según el IBPGR (1985) y la UPOV (1994), fueron los siguientes (Tabla 28): altura de la planta en cm (PALT), longitud de la espiga en mm (ELON), número de

espiguillas por espiga (EESPN), densidad de la espiga (EDEN), días entre siembra y espigado (DESP), días entre siembra y maduración fisiológica (DMAD), porcentaje de encamado (ENC) y rendimiento del trigo en kg/ha (RDTO). Todos estos descriptores dependen tanto del genotipo como de la influencia ambiental.

Tabla 28. Descriptores agromorfológicos cuantitativos

Descriptor	Tipo de variable	Descripción
PALT	Cuantitativa Continua	Altura de la planta (cm)
ELON	Cuantitativa Continua	Longitud de la espiga (cm)
EESPN	Cuantitativa Discreta	Número de espiguillas por espiga
EDEN	Cuantitativa Continua	Densidad de la espiga
DESP	Cuantitativa Discreta	Días desde siembra hasta espigado
DMAD	Cuantitativa Discreta	Días desde siembra hasta madurez fisiológica
ENC	Cuantitativa Discreta	Porcentaje de encamado (%)
RDTO	Cuantitativa Continua	Rendimiento (kg/ha)
DLLG	Cuantitativa Discreta	Período de llenado del grano (días)

Los datos para cada accesión de los descriptores PALT, ELON, EESPN y EDEN fueron tomados de cinco espigas representativas de cada fila (unidad experimental).

A continuación, se describe como se tomaron los datos de cada descriptor.

2.5.1. Altura de la planta (PALT)

Se mide en cm, desde el suelo al ápice de las espigas, sin contar con las barbas. Se mide la altura de cinco plantas, y se halla su media. Se realizó entre los estados de madurez fisiológica y madurez de cosecha.

2.5.2. Longitud de la espiga (ELON)

Se mide en cm, desde el pedúnculo al ápice de las espigas, sin contar con las barbas. Se incluyen por tanto las espiguillas estériles. Se mide la longitud de cinco espigas al azar, y se halla su media. Se realizó entre los estados de madurez fisiológica y madurez de cosecha.

2.5.3. Número de espiguillas por espiga (EESPN)

Se cuentan el número de espiguillas por cada espiga seleccionada, sin contar con las espiguillas estériles. Se cuentan en cinco espigas al azar, y se halla su media. Se realizó entre los estados de madurez fisiológica y madurez de cosecha.

2.5.4. Densidad de la espiga (EDEN)

En las cinco espigas seleccionadas al azar de cada línea, se calcula mediante la siguiente fórmula: $D = ((n - 1) * 100 / L)$

Donde n = nº de espiguillas y L = longitud de raquis (mm), desde la base de la espiga, incluídas espiguillas estériles, hasta la base de la espiguilla apical.

2.5.5. Días desde la fecha de siembra a la de espigado (DESP)

La fecha de espigado se tomó en el momento en que el 50% de las espigas de la fila están a medio salir de la vaina, es decir con la mitad de la espiga visible. Plantas en estado Z55 (Zadoks *et al.*, 1974).

2.5.6. Días desde la fecha de siembra a la de la Madurez fisiológica (DMAD)

La fecha de madurez fisiológica se tomó en el momento en que la espiga y el pedúnculo pasan de color verde a amarillo. Plantas en estado Z87 (Zadoks *et al.*, 1974), con estado pastoso duro del grano.

2.5.7. Encamado (ENC)

El encamado se toma por estimación visual del porcentaje de plantas de cada fila que se inclinan formando un ángulo igual o menor a 45° con el suelo. Se tomaron los datos en días previos a la cosecha.

2.5.8. Rendimiento (RDTO)

Los datos de rendimiento fueron calculados a partir de la cosecha manual de las espigas de cada fila, exceptuando las cinco espigas utilizadas para calcular los descriptores ELON, EESPN, EDEN, y los descriptores morfológicos. Se estandarizaron los pesos para una humedad del grano del 13%, y se expresan en kg/ha.

2.6. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DE GRANO

Los descriptores estudiados fueron el contenido en proteína del grano (s.m.s), el peso específico del grano (kg/hl), el test de sedimentación en SDS (mm), y el peso de mil granos (g). Para obtener los datos de calidad en laboratorio, se usaron los granos cosechados de las espigas de cada fila, previamente trillados y limpiados de impurezas con una trilladora LD-180 Wintersteiger y una limpiadora de granos LA-LS Westrup, respectivamente.

El contenido en proteína bruta de un grano es el resultado de multiplicar el contenido en nitrógeno, determinado por el procedimiento Kjeldahl por un factor de transformación del nitrógeno en proteína (5,70 para trigo). Para transformar la proteína bruta en proteína s.m.s, previamente se calcula la humedad del grano, secando 5 g de a 130 °C bajo presión atmosférica normal, durante una hora y media. Los métodos utilizados se ajustaron a los Métodos Oficiales de Análisis de Aceites y Grasas, Cereales y Derivados, Productos Lácteos y Productos Derivados de la Uva (Orden de 31 de enero de 1977, de Presidencia del Gobierno).

Para calcular el peso específico del grano (kg/hl) (PHL), se siguió la norma redactada en la Directiva 71/347/CEE, de 12 de octubre de 1971, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre la medición de la masa hectolítrica de cereales (DO L 239 de 25/10/1971, p.1).

El test de sedimentación (SDSS) evalúa la fuerza del gluten, y consiste en la medición del volumen de sedimentación de una suspensión de harina integral en una solución acuosa de ácido láctico – sodio dodecil sulfato. Se realizó por el método ICC-Standard nº151 (International Association for Cereal Science and Technology), basado en el método propuesto de Dick y Quick (1983).

Para la medición del peso de mil granos (PMS), se pesaron dos submuestras de mil granos, después de realizar el conteo en un contador de granos Pfeuffer.

Las determinaciones se realizaron en el Laboratorio Agroalimentario de Córdoba, excepto el peso de mil granos, realizado en el laboratorio del CIAM.

Tabla 29. Descriptores de calidad de grano

Descriptores	Tipo de variable	Descripción
PROT	Cuantitativa Continua	Porcentaje de proteína (% s.m.s)
PHL	Cuantitativa Continua	Peso Hectolítrico o específico (kg/hl)
SDSS	Cuantitativa Continua	Test de sedimentación en SDS (mm)
PMS	Cuantitativa Continua	Peso de mil granos (g)

2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.7.1. Análisis univariante

Para los descriptores cuantitativos utilizados se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante el procedimiento GLM en el software estadístico SAS 9.4., revisándose previamente las condiciones necesarias para proceder con el ANOVA, mediante el cumplimiento de los requisitos de independencia y normalidad. El primer requisito se garantizó con una buena toma de muestras, y la normalidad mediante el histograma de la distribución de los datos, la asimetría y la curtosis.

Para los descriptores en los que se recogieron cinco datos de cada unidad experimental, previamente se calculó la media aritmética.

Se utilizó el siguiente modelo de análisis de varianza (ANOVA):

$$X = \mu + \text{genot} + \text{año} + \text{bloque (año)} + \text{genot}*\text{año} + \varepsilon$$

donde μ = media general; año = efecto del año; bloque = efecto del bloque o repetición, dentro de cada año; genot = genotipo o accesión; genot*año = interacción entre genotipo y año; ε = error residual.

Los factores genotipo y bloque, se consideraron de efectos fijos, y el factor año de efecto aleatorio. Para testar la significación del genotipo, se usó la interacción genotipo*año como término de error.

Para comprobar las diferencias significativas entre medias, se utilizó el test de separación de medias de Tukey, ya que la fuerza de la inferencia es mucho mayor a otros test como Duncan y “t” de Student. El nivel de significación mínimo fue el 95%, tanto en la significación del modelo, como en la significación de los factores y en la separación de medias.

Para comprobar posibles correlaciones entre los parámetros cuantitativos que cumplan el supuesto de normalidad, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson, mediante el procedimiento CORR, en el software estadístico SAS 9.4.

Para los descriptores cualitativos, el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (Chi-cuadrado) fue utilizado para buscar la existencia de diferencias significativas entre accesiones. Para los descriptores en los que se recogieron cinco datos de cada unidad experimental, previamente se calculó la moda. Para poder calcular las diferencias entre los ecotipos, se utilizó el método de Dwass, Steel, Critchlow-Fligner (DSCF), test *post-hoc* de comparación múltiple para poder realizar todas las posibles comparaciones entre ecotipos, tomados de dos en dos, mediante el procedimiento NPAR1WAY, en el software estadístico SAS 9.4.

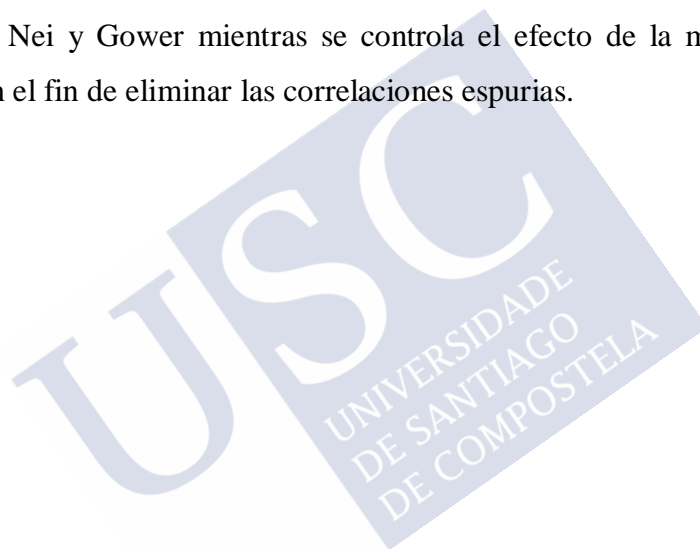
Para las variables cuantitativas que no cumplieron con el supuesto de normalidad, y para las variables de tipo cualitativo (ordinal), se usó el coeficiente de correlación de Spearman para comprobar posibles correlaciones entre dichas variables. Para el análisis univariante se utilizaron los datos originales, mediante el procedimiento CORR, en el software estadístico SAS 9.4.

2.7.2. Análisis multivariante

Para los 110 ecotipos evaluados en campo se calculó la matriz de similitud entre ecotipos utilizando el índice de similaridad de Gower (Gower, 1971) que realiza una estandarización de las variables, en el paquete estadístico MULTIV v3.76b (Pillar, 1997, 2006). Empleando la matriz de similaridad obtenida se construyó el dendrograma de agrupación utilizando el método UPGMA, del paquete estadístico NTSYS pc 2.1 (Rohlf, 2003). Del análisis clúster se determinó la existencia de un patrón de agrupación de los ecotipos en 18 grupos, por lo que, para estimar los componentes de variabilidad genética para la diferenciación en grupos y subgrupos se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) (software Arlequin v3.5 (Excoffier et al., 2005)) y un ANOVA unifactorial,

así como una comparación múltiple entre grupos mediante el procedimiento DHS (Honestly Significant Difference) de Tukey empleando el paquete SPSS v15 (2006).

Para el estudio de la distribución espacial se realizó un test de Mantel con 1000 permutaciones empleando el módulo MXCOMP del paquete estadístico NTSYS pc 2.1 (Rohlf, 2003). Se compararon las matrices de distancias genéticas (matriz de distancias genéticas de Nei entre ecotipos y matriz de similitud entre ecotipos obtenida con el índice de Gower) y la matriz de distancia geográfica (distancia euclídea a partir de los datos de latitud, longitud y altitud) (Mantel, 1967). Por otro lado, también se realizó un test parcial de Mantel con 1000 permutaciones entre las matrices de distancias genéticas (matriz de distancias de Nei y matriz de similitud de Gower) ajustando los efectos de la regresión en la matriz de distancias geográficas (Smouse et al., 1986), para probar la correlación entre las matrices de Nei y Gower mientras se controla el efecto de la matriz de distancias geográficas, con el fin de eliminar las correlaciones espurias.







3. RESULTADOS



3.1. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUANTITATIVA

3.1.1. Análisis de la varianza (ANOVA)

Se realizó un estudio de la normalidad para los ocho descriptores cuantitativos agromorfológicos (PALT, ELON, EESPN, EDEN, DESP, DMAD, ENC, RDTO), previo a la realización del ANOVA. Se estimó dicha normalidad mediante los histogramas, la asimetría y la curtosis.

Tanto la forma de los histogramas (anexo 4), como los valores de asimetría y curtosis (tabla 30), permitieron constatar la cercanía a la normalidad de las distribuciones de los datos de los descriptores PALT, ELON, EESPN, EDEN, RDTO. El descriptor ENC se alejaba mucho de la distribución normal, y los descriptores fenológicos DESP y DMAD mostraron una distribución bimodal, por lo que no entraron en el estudio ANOVA posterior, pero se usaron después en el análisis multivariante una vez estandarizados utilizando la medida de similitud de Gower. La distribución de la variable EDEN es moderadamente sesgada y con más concentración de valores en la región central que lo normal, pero la desviación no es exagerada, y con una poblacional de 1320 individuos, el ANOVA es muy robusto frente a pequeñas desviaciones de la normalidad.

Tabla 30. Valores para el estudio de la normalidad de descriptores PALT, ELON, EESPN, EDEN y RDTO

Descriptores	Asimetría	Curtosis
PALT	0,00	0,27
ELON	0,14	-0,13
EESPN	0,23	0,16
EDEN	0,72	1,35
RDTO	0,33	0,04

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA), empleando el test de Tukey para la separación de medias. El nivel de significación fue el 5%, tanto en la significación del modelo, como en la significación de los factores, y en la separación de medias.

Tabla 31. Estadísticos simples de descriptores agromorfológicos cuantitativos.

Descriptores	R ²	CV	\bar{X}	σ_e ($\sqrt{CM_e}$)	Máx	Mín	F _{model}
PALT	0,67	3,60	141,03	5,07	155,73	127,97	5,94***
ELON	0,51	7,09	10,51	0,75	11,43	9,19	3,06***
EESPN	0,54	5,72	17,57	1,01	19,67	15,15	3,36***
EDEN	0,62	4,52	17,50	0,79	19,91	16,17	4,66***
RDTO	0,57	16,33	2327,77	380,21	3300,10	1686,50	3,88***

R²= coef. determinación del modelo; CV= coef. variación del error experimental ($\sqrt{CM_e} \cdot 100/X$); \bar{X} = promedio; $\sqrt{CM_e}$ = desviación estándar del error experimental; Máx= valor máximo; Mín= valor mínimo; F_{modelo}= valor F del modelo

La F calculada tanto para el modelo como para el factor genotipo fue altamente significativa para todos los descriptores agromorfológicos (tablas 31 y 32), por lo que las diferencias de medias entre las accesiones fueron significativas (ver figuras 29 a 33). Tan solo en el descriptor RDTO se superó el 10% de coeficiente de variación del ensayo.

Tabla 32. Estadísticos simples de descriptores agromorfológicos cuantitativos, desglosados para factor genotipo y año

Descriptores	\bar{X}	CV _{genot}	σ_{genot} ($\sqrt{CM_{genot}}$)	CV _{año}	$\sigma_{año}$ ($\sqrt{CM_{año}}$)	F _{genot}	F _{año}	F _{genot*año}
PALT	141,03	11,30	15,93	56,99	80,38	6,84***	251,3***	1,44***
ELON	10,51	15,20	1,60	72,18	7,59	4,39***	103,6***	1,05 NS
EESPN	17,57	13,63	2,40	49,10	8,63	3,85***	73,7***	1,47***
EDEN	17,50	13,45	2,35	36,17	6,33	5,04***	64,1***	1,76***
RDTO	2327,77	39,85	927,69	148,96	3467,47	3,05***	83,17***	1,95***

CV_{genot(año)}= coef. variación debida al genotipo(año) ($\sqrt{CM_{genot(año)}} \cdot 100/\bar{X}$); \bar{X} = media;

$\sigma_{genot(año)}$ = desviación típica debido al genotipo (año); F_{año}= F del factor año; F_{genotipo}=

F del factor genotipo; F_{genot*año}= F del factor genotipo*año

En la tabla 32 se muestran las varianzas obtenidas del conjunto de todas las accesiones debido al factor genotipo y año, para cada descriptor estudiado. Los bajos valores de desviación estándar (σ) debido al genotipo, para las variables ELON, EESPN y EDEN, nos indican que son variables poco discriminantes entre las accesiones.

Las desviaciones estándar y CV, debido al año climático, fueron muy superiores a las obtenidas debido al efecto de los distintos genotipos (tabla 32). Es decir, la varianza en todos los descriptores debida a los diferentes años climatológicos, es muy superior a la varianza existente debido a las diferencias genotípicas de las accesiones. La interacción genotipo*año fue muy significativa para todos los descriptores, excepto ELON, que nos

muestra que a los distintos genotipos no les afecta de la misma manera los cambios climatológicos de los tres años.

3.1.2. Separación de medias por accesiones/ecotipos

Se utilizó test de Tukey para hacer la separación de medias (ver figuras 29 a 33), con un nivel de significación de 5%. Los testigos usados fueron la variedad Callobre (68), variedad Caaveiro (195), y líneas de mejora E1L2 (194) y E16L30 (196).

Con respecto al descriptor PALT, la media de la colección y de los testigos fue de 141,03 y 143,94 cm, respectivamente, existiendo un rango de valores en la colección desde 155,73 cm a 127,97 cm. Los genotipos más bajos fueron 110, 97, 146, y 176, siendo significativamente menores a los 30 ecotipos más altos, incluyendo a los testigos Caaveiro y 196. El ecotipo 166 supera en altura significativamente a todos los testigos, excepto a 196. Del resto de ecotipos, ninguno es significativamente más alto que los testigos utilizados. Tampoco existen diferencias significativas entre los cuatro testigos.

En cuanto al descriptor ELON, ningún ecotipo tuvo una espiga significativamente superior a los cuatro testigos. La media de la colección y de los testigos fue de 10,51 y 10,81 cm, respectivamente. El rango de valores observados en la colección fue desde 11,43 cm a 9,19 cm. Los genotipos con espigas más largas fueron el 147, 139, 114 y 153, y aquellos con espigas más pequeñas fueron el 110, 146, 167 y 112.

Los ecotipos con mayor número de espiguillas por espiga (EESPN) fueron el 96 y 147, con 19,67 y 19,51 espiguillas de media, respectivamente. Ningún ecotipo superó significativamente a los testigos, siendo estos superiores al 112. El ecotipo Caaveiro superó significativamente a los 9 ecotipos con menor número de espiguillas. La media de la colección fue de 17,57, y de los testigos 18,17.

En cuanto al descriptor EDEN, los ecotipos 110, 146, 21, y 99, superaron significativamente a los testigos 68, 194 y 196. Ningún ecotipo superó al testigo 195. La media de la colección fue de 17,50, y la de los testigos 17,53. Los ecotipos con mayor densidad de espiga fueron los ecotipos 110, 146, 21, 99, 97 y 22, con un valor superior a 19. Estos ecotipos estuvieron en el rango más bajo de longitud de espiga, siempre con espigas iguales o menores de 10 cm.

Los rendimientos de los ecotipos testados están en un rango de 1.686 a 3.300 kg/ha, con una media de 2.328 kg/ha. La media de los cuatro testigos fue de 2.921 kg/ha. Ningún ecotipo superó al testigo 195 (Caaveiro), ya que fue quién obtuvo mayor rendimiento.

Entre los cinco ecotipos con mayor rendimiento, estuvieron los testigos 195 (Caaveiro), 194 y 196, con 3.300, 2.880 y 2.859 kg/ha, respectivamente. Los ecotipos 165 y 191 superaron significativamente a los ecotipos 122, 96, 133, 154, 92, 170, 152, 19, 176, 147, 91, 166 y 114. El ecotipo 193 superó significativamente al 91, 166, y 114, y el ecotipo 164 superó significativamente al 166 y 114.

El hecho de no encontrar diferencias significativas entre ecotipos que difieren en 1.000 kg/ha, se debe a un coeficiente de variación algo elevado, y bastante superior al de los otros descriptores cuantitativos, a los que no les afecta tanto la variabilidad del terreno.

Con respecto a la separación o contraste de medias realizada por el test de Tukey para cada descriptor, se adjuntan las figuras siguientes (29 a 33), en las cuales los ecotipos cubiertos con la misma barra no son significativamente diferentes.



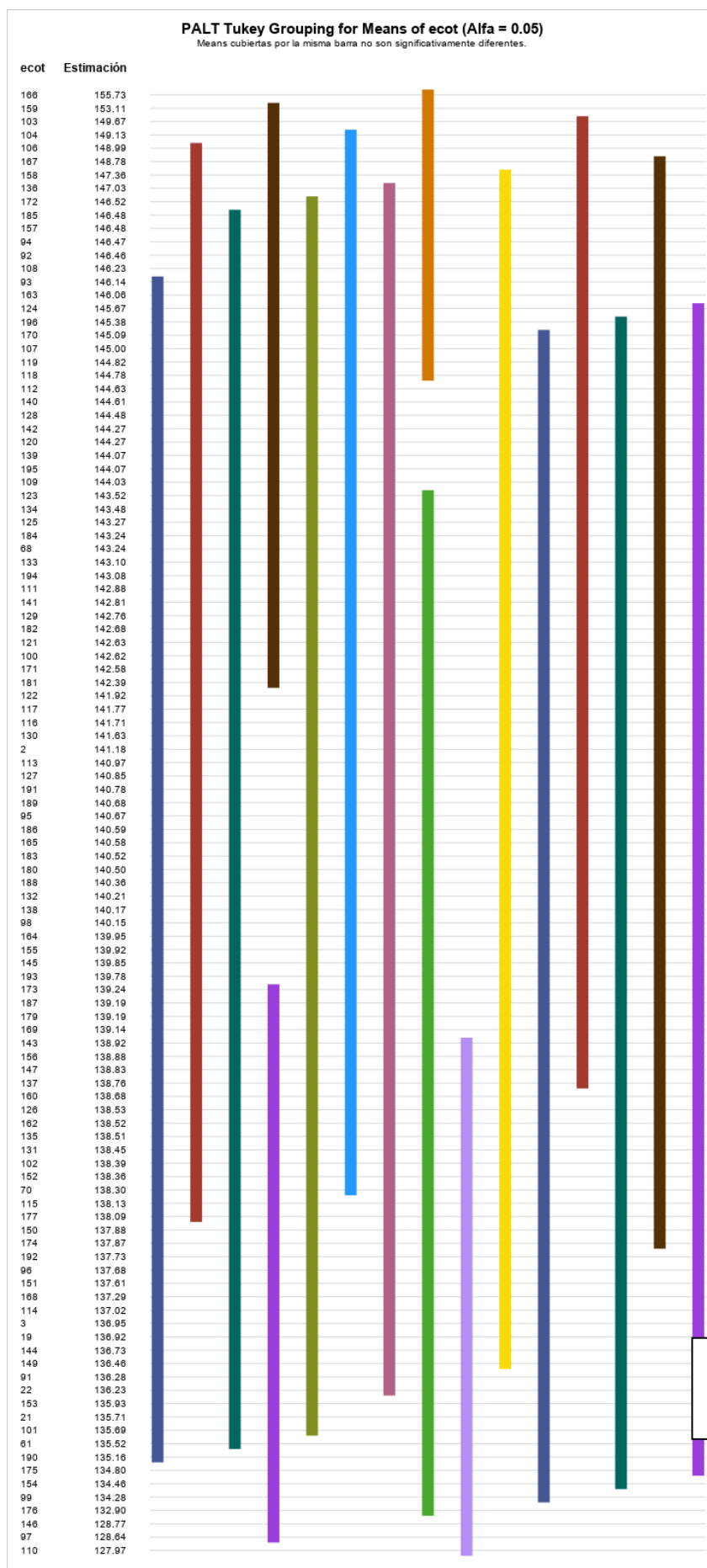
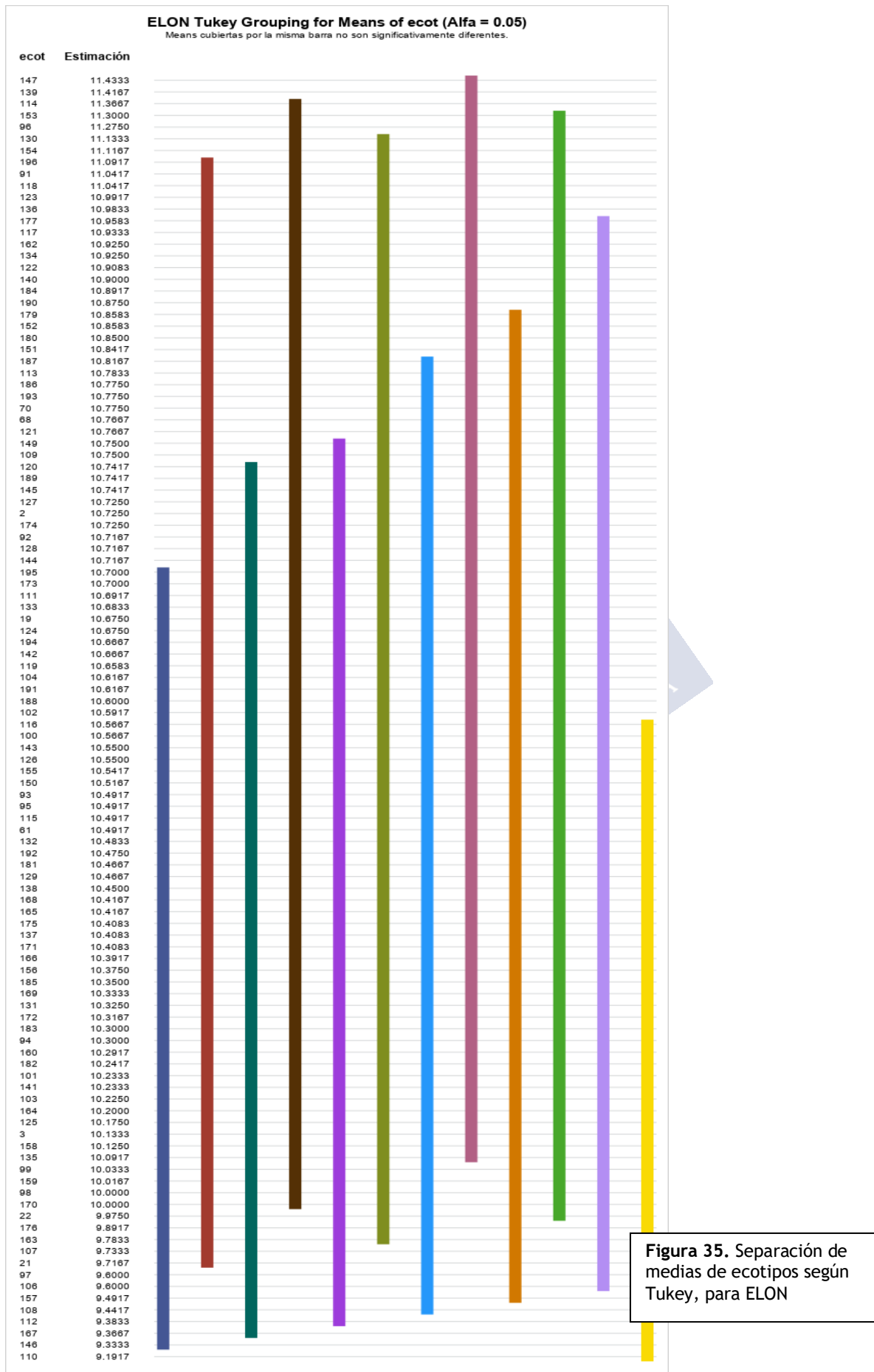
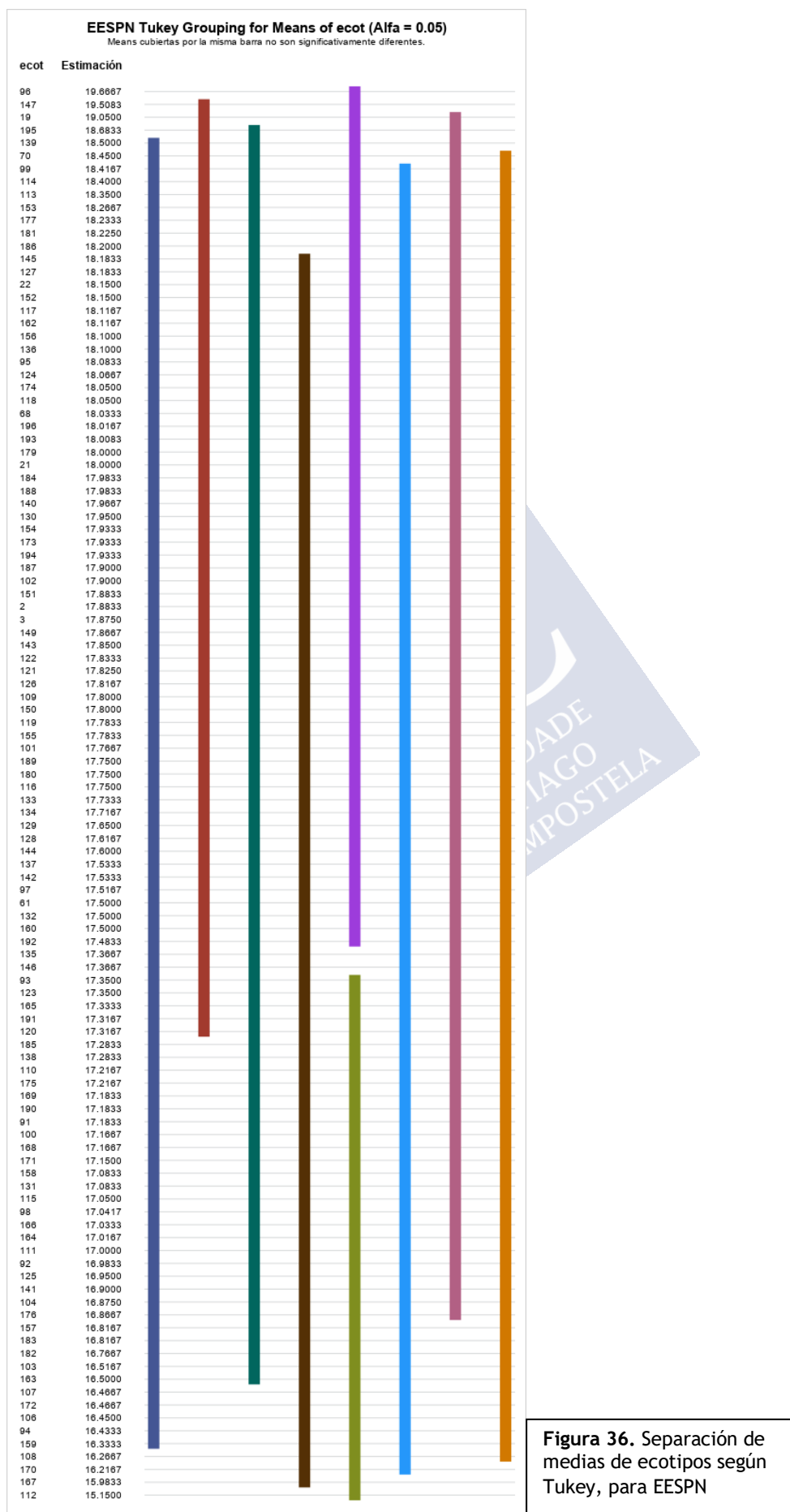
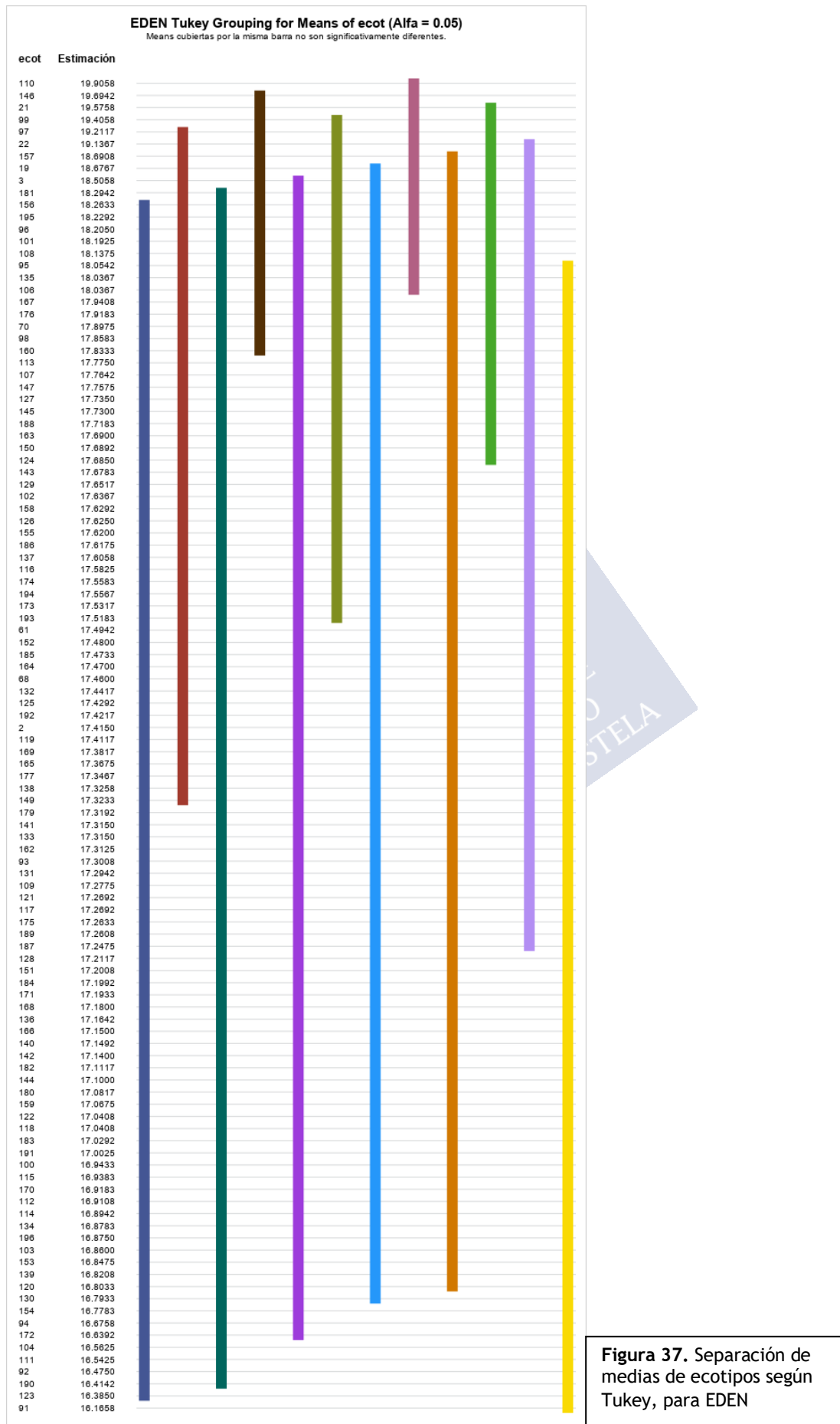


Figura 34. Separación de medias de ecotipos según Tukey, para PALT







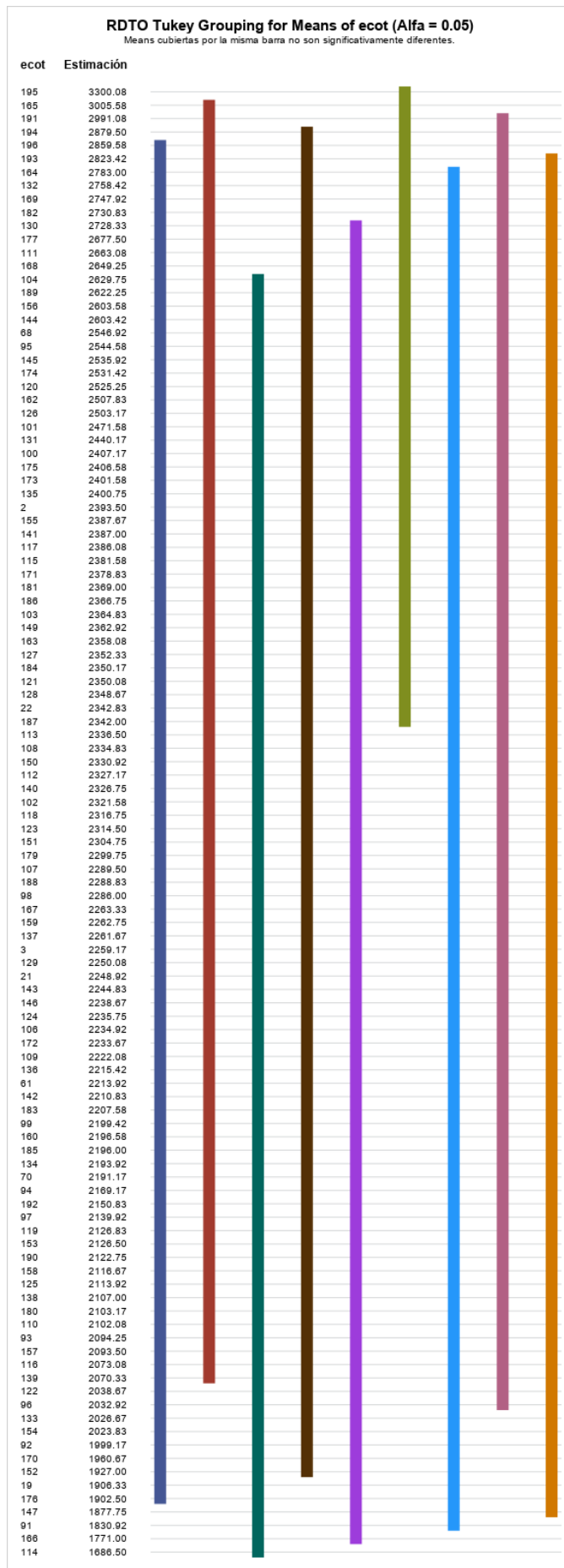


Figura 38. Separación de medias de ecotipos según Tukey, para RDTO

3.1.3. Separación de medias por año

En la tabla 33 se resumen las medias anuales de los cinco descriptores agromorfológicos cuantitativos, observándose que existió una diferencia significativa entre los 3 años (ver figuras 34, 36, 38, 40, 42). Por tanto, se muestra que una gran parte de la variabilidad de estos descriptores se debe a las condiciones climáticas anuales, ya que los genotipos estudiados eran los mismos y las labores realizadas fueron las mismas (excepto la falta de fungicida en 2012).

Tabla 33. Medias anuales de descriptores agromorfológicos cuantitativos

Años	PALT	ELON	EESPN	EDEN	RDTO
2011-12	143,75 a	10,92 a	18,04 a	17,81 a	2156,17 c
2012-13	142,69 b	10,33 b	17,44 b	17,49 b	2316,53 b
2012-14	136,65 c	10,27 b	17,25 c	17,20 c	2483,66 a

Con respecto al descriptor PALT, se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 39), obteniéndose el mayor valor en altura (143,75 cm) el primer año (2012) y el mínimo valor (136,65 cm) el tercer año (2014). Esta diferencia es debida en gran parte a la diferencia de casi un mes entre las siembras de años sucesivos. Aunque las siembras estaban previstas para el mes de enero, por el mal tiempo se postergó a febrero el segundo año y a marzo el tercer año.

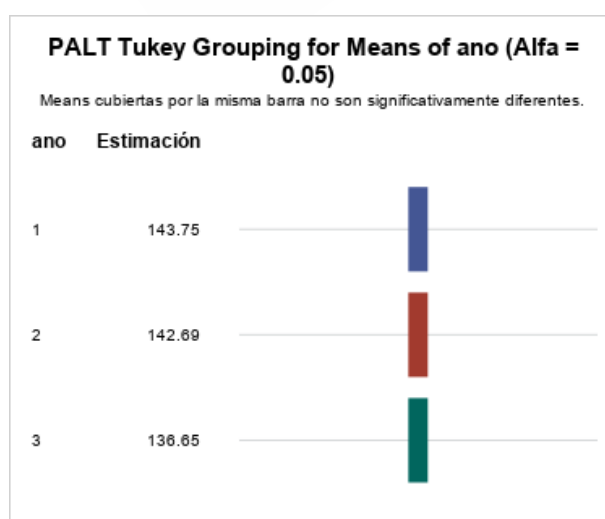


Figura 39. Agrupamiento de medias por año de variable PALT

La distribución de los datos del descriptor PALT es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 40) y muy centrados en la media.

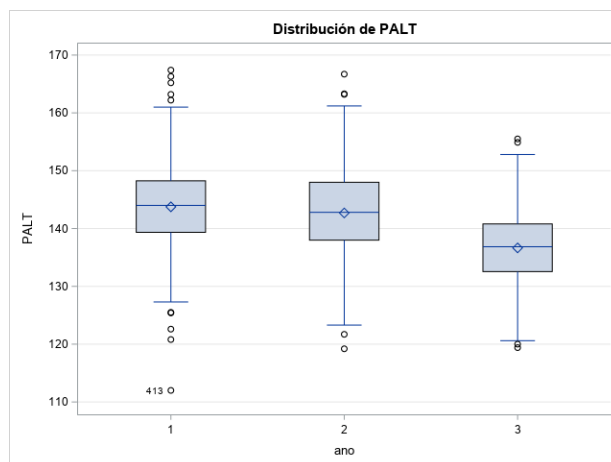


Figura 40. Distribución de variable PALT por año

En el descriptor ELON se obtuvo una diferencia significativa entre el segundo año (2013), y el resto de los años (2012 y 2014) (figura 41). La media de ELON de las accesiones, en todos los años, superó los 10 cm de longitud de espiga. El mayor valor fue de 10,9 cm de media del segundo año (2012).

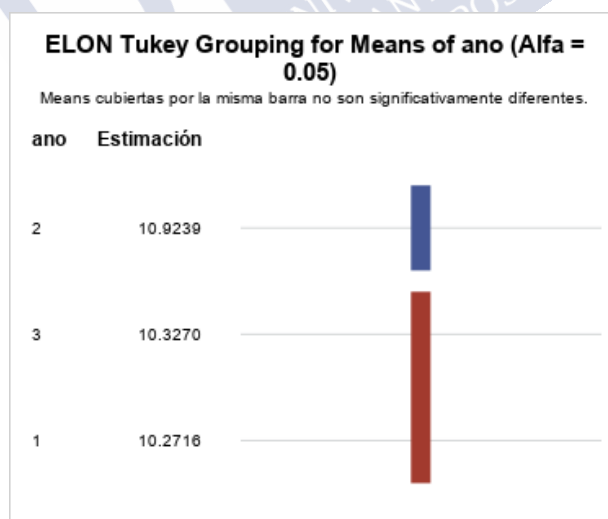


Figura 41. Agrupamiento de medias por año de variable ELON

La distribución de los datos del descriptor ELON es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 42) y muy centrados en la media.

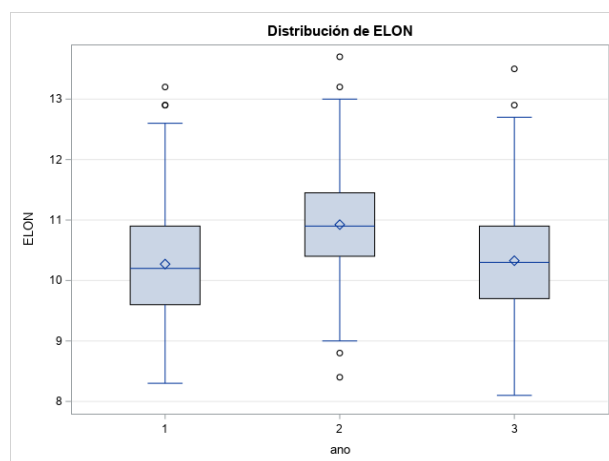


Figura 42. Distribución de variable ELON por año

En la variable EESPN se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 43), obteniéndose el mayor número de espiguillas por espiga (18,03) el segundo año (2013) y el mínimo valor (17,25) el tercer año (2014). Al estar este descriptor correlacionado con ELON, coincide que el año 2013 fue el mejor de los tres, en cuanto longitud de espiga y número de espiguillas por espiga.

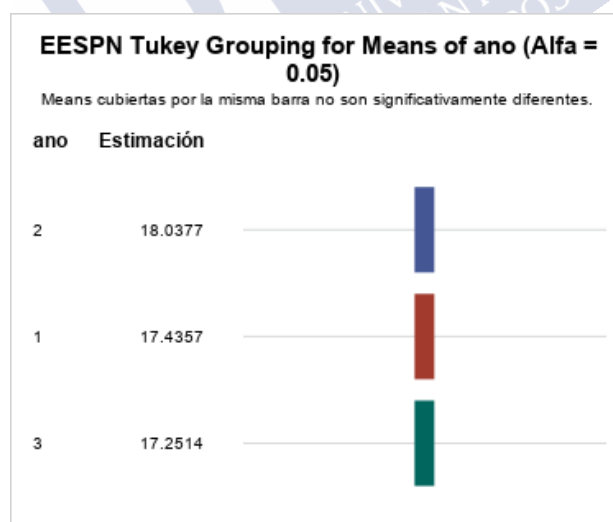


Figura 43. Agrupamiento de medias por año de variable EESPN

La distribución de los datos del descriptor EESPN es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 44), aunque más comprimida para el primer (2012) y tercer año (2014).

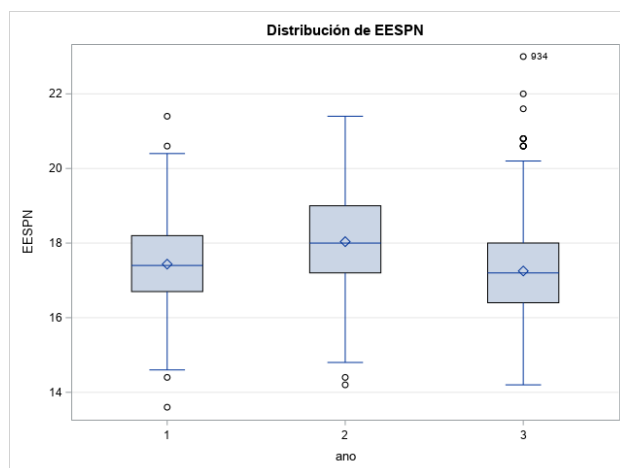


Figura 44. Distribución de variable EESPN por año

En el descriptor EDEN se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 45), obteniéndose el mayor número de espiguillas por espiga (17,80) el primer año (2012) y el mínimo valor (17,20) el segundo año (2013).

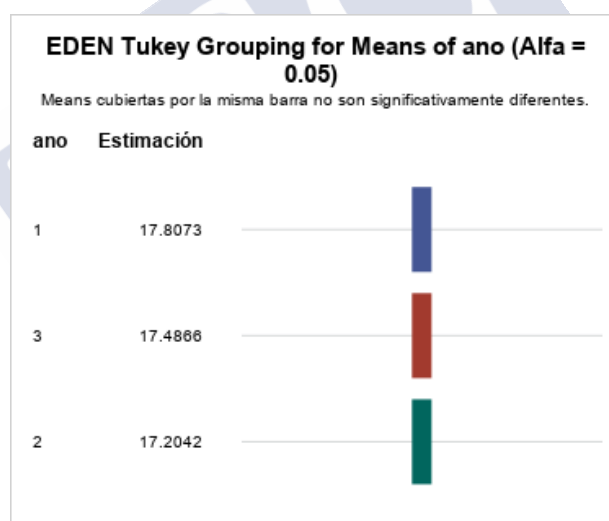


Figura 45. Agrupamiento de medias por año de variable EDEN

La distribución de los datos del descriptor EDEN es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 46), aunque más comprimida para el segundo año (2013).

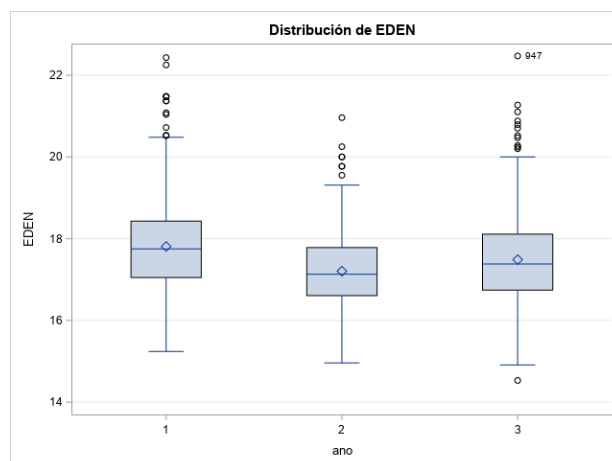


Figura 46. Distribución de variable EDEN por año

En el descriptor RDTO se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 47), obteniéndose el mayor rendimiento (2.483 kg/ha) el tercer año (2014) y el mínimo valor (2.154 kg/ha) el primer año (2012).

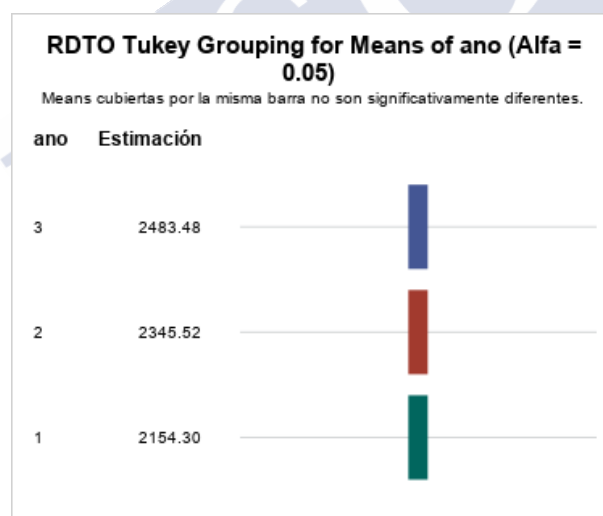


Figura 47. Agrupamiento de medias por año de variable RDTO

La distribución de los datos del descriptor RDTO es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 48), con una media y mediana similar.

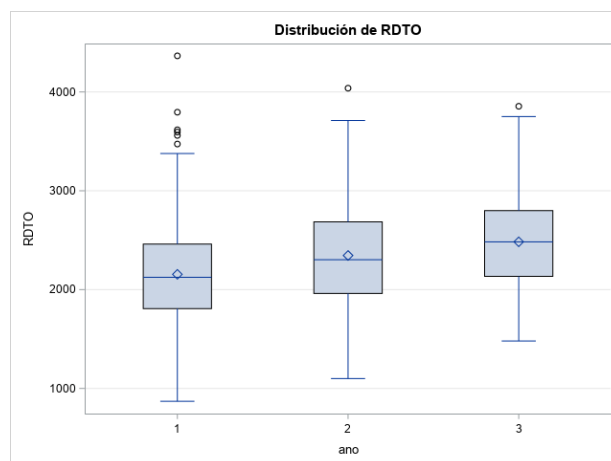


Figura 48. Distribución de variable RDTO por año

3.1.4. Correlaciones entre parámetros agromorfológicos cuantitativos

A través del coeficiente de correlación de Pearson se testaron las posibles correlaciones entre los descriptores agromorfológicos cuantitativos y el rendimiento. Como todas las variables son cuantitativas y tienen una distribución normal, se puede utilizar el citado coeficiente.

Se muestra en la tabla 34, una fuerte correlación positiva entre ELON y EESPN ($r = 0,772$) y negativa entre ELON y EDEN ($r = -0,602$), siendo las dos muy significativas ($p < 0,001$). El tamaño del efecto (R^2), medido mediante el cuadrado de las dos correlaciones, es de 0,597 (alto) y 0,363 (alto), respectivamente. La primera correlación evidencia que cuanto mayor es la longitud de la espiga, más número de espiguillas tiene. La segunda correlación, no tan evidente, es que, a mayor longitud de espiga, disminuye la densidad de espiga, con lo que las espiguillas se separan más dentro del raquis.

Los coeficientes de correlación calculados entre los descriptores PALT y ELON ($r = 0,109$), y PALT y EDEN ($r = -0,131$), fueron muy significativas, pero de muy bajo tamaño de efecto ($R^2 = 0,012$ y $0,017$, respectivamente) (tabla 34).

Las correlaciones entre los descriptores PALT y EESPN, y EESPN y EDEN fueron no significativas.

Con respecto a la variable rendimiento, se halló una correlación positiva significativa ($p < 0,001$), pero débil entre PALT y RDTO ($+0,122$), con un tamaño de efecto muy bajo ($R^2 = 0,015$), mientras que el resto los descriptores tiene casi nula correlación con la variable RDTO.

En el anexo 5 se pueden ver los diagramas de dispersión calculados entre cada par de variables o descriptores.

Tabla 34. Matriz de correlaciones de Pearson y significancia (p-valor), de descriptores PALT, ELON, EESPN, EDEN, RDTO

	PALT	ELON	EESPN	EDEN	RDTO
PALT	1,0000	0,1092	0,0439	-0,1319	0,1230
p-valor		<0,001	0,1106	<0,001	<0,001
ELON	0,1092	1,0000	0,7726	-0,6028	0,0789
p-valor	<0,001		<0,001	<0,001	0,0041
EESPN	0,0439	0,7726	1,0000	0,0331	0,0563
p-valor	0,1106	<0,001		0,2291	0,0408
EDEN	-0,1319	-0,6028	0,0331	1,0000	-0,0585
p-valor	<0,001	<0,001	0,2291		0,0335
RDTO	0,1230	0,0789	0,0563	-0,0585	1,0000
p-valor	<0,001	0,0041	0,0408	0,0335	

Para los descriptores fenológicos DESP y DMAD, al no tener una distribución normal, se realizó una correlación mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

Con los valores de los tres años (tabla 35), se observa una fuerte correlación positiva significativa entre DESP y DMAD ($r = 0,982$), y una correlación negativa moderada entre DESP y RDTO ($r = -0,324$), y DMAD y RDTO ($r = -0,305$), siendo las tres muy significativas. El tamaño de efecto (R^2) de las tres correlaciones es de 0,965 (alto), 0,105 (bajo) y 0,093 (bajo), respectivamente.

La correlación entre DESP y DMAD muestra que cuanto más tardío es el espigado, más tardía es la maduración del grano.

Tabla 35. Matriz de correlaciones de Spearman y significancia (p-valor) de descriptores RDTO, DESP y DMAD.

	RDTO	DESP	DMAD
RDTO	1,0000	-0,3246	-0,3057
p-valor		<0,001	<0,001
DESP	-0,3246	1,0000	0,9824
p-valor	<0,001		<0,001
DMAD	-0,3057	0,9824	1,0000
p-valor	<0,001	<0,001	

Las correlaciones negativas entre DESP y RDTO, y DMAD y RDTO, indican que, en las siembras tardías de primavera, aquellos ecotipos con espigados y maduración más tardía, se ven penalizados en el rendimiento en grano.

Este análisis de correlación se repitió individualmente para cada año, observándose un incremento del valor de las correlaciones negativas DESP-RDTO y DMAD-RDTO (tabla 36), a medida que se retrasaba la fecha de siembra (25/01/2012; 20/02/2013; 11/03/2014) en años sucesivos. Esto refuerza la idea de que cuanto más tarde se realice la siembra, más se ven afectados en el rendimiento los ecotipos de ciclo más largo. La explicación a esta correlación es debida a que, en los ecotipos de ciclo más largo, la maduración se alarga hasta finales de julio, con lo que una gran parte del periodo de llenado del grano lo realiza en el mes de julio, que como se observa en los diagramas ombrotérmicos (figuras 14 a 16) es el mes más seco y es cuando se produce un estrés hídrico, y por tanto el llenado de grano no se realiza en su momento óptimo. Sin embargo, los ecotipos de espigado más precoz, llegan a completar su ciclo de madurez casi un mes antes (finales de junio a principios de julio), con lo que su madurez se realiza en un momento óptimo.

Tabla 36. Matriz de correlaciones de Spearman y significancia (p-valor) de descriptores RDTO, DESP, DMAD y DLLG, desglosados por años

	AÑO 2012				AÑO 2013				AÑO 2014			
	DESP	DMAD	DLLG	RDTO	DESP	DMAD	DLLG	RDTO	DESP	DMAD	DLLG	RDTO
DESP	1,0000	0,8210	0,1028	-0,1081	1,0000	0,7784	-0,3320	-0,1728	1,0000	0,9264	0,4933	-0,3822
p-valor		<0,001	0,0311	0,0233		<0,001	<0,001	0,0003		<0,001	<0,001	<0,001
DMAD	0,8210	1,0000	0,6084	0,0044	0,7784	1,0000	0,3024	-0,1131	0,9264	1,0000	0,7476	-0,3818
p-valor	<0,001		<0,001	0,9270	<0,001		<0,001	0,0177	<0,001		<0,001	<0,001
DLLG	0,1028	0,6084	1,0000	0,1421	-0,3320	0,3024	1,0000	0,1013	0,4933	0,7476	1,0000	-0,2117
p-valor	0,0311	<0,001		0,0028	<0,001	<0,001		0,0337	<0,001	<0,001		<0,001
RDTO	-0,1081	0,0044	0,1421	1,0000	-0,1728	-0,1131	0,1013	1,0000	-0,3822	-0,3818	-0,2117	1,0000
p-valor	0,0233	0,9270	0,0028		0,0003	0,0177	0,0337		<0,001	<0,001	<0,001	

En la tabla 36 también se introduce la diferencia entre DMAD y DESP (DLLG), que corresponde al periodo entre el espigado y la maduración. No corresponde exactamente con el periodo de llenado del grano, ya que éste comienza en la antesis, pero sirve para hacer comparaciones, ya que el momento de la antesis es muy estable. Se observó que con siembras más tempranas (2012 y 2013), la correlación de DLLG era positiva con el RDTO ($r = 0,142^{***}$ y $r = 0,101^{***}$, respectivamente). Sin embargo, en el año 2014 ya se muestra una correlación negativa entre DLLG y RDTO ($r = -0,211^{***}$), con una siembra más tardía, debido a lo explicado en el párrafo anterior.

3.2. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA

Para los 17 descriptores agromorfológicos cualitativos, al ser variables discretas o nominales, se realizó el análisis de Kruskal-Wallis para testar las posibles diferencias entre los 110 ecotipos. Previamente se calculó la moda de los cinco valores obtenidos en cada unidad experimental.

Como se muestra en la tabla 37, se observaron diferencias significativas entre los ecotipos, excepto para los descriptores GFOR, SFOR, STAM, GFORP, BRUG y SCOL. Para los dos últimos no existió variabilidad, y para los primeros la variabilidad encontrada fue demasiado pequeña para establecer diferencias significativas.

Tabla 37. Análisis Kruskal-Wallis de los 17 descriptores cualitativos en 110 ecotipos de trigo gallego.

Descriptor	Chi-cuadrado	GL	p-value	Nivel de significancia
GLONP	714,5898	109	< 0,0001	***
GCOL	676,5405	109	< 0,0001	***
GIVELL	242,8029	109	< 0,0001	***
GEVELL	1001,2208	109	< 0,0001	***
GFOR	130,2212	109	0,0811	NS
GANC	732,0873	109	< 0,0001	***
GFHO	748,8249	109	< 0,0001	***
SFOR	115,3625	109	0,3200	NS
BLON	559,7081	109	< 0,0001	***
BCOL	651,531	109	< 0,0001	***
BRUG	0	109	1	NS
STAM	152,0918	109	0,0041	**
GFORP	147,3113	109	0,0085	**
TCOL	813,4145	109	< 0,0001	***
TSEC	1055,3619	109	< 0,0001	***
HCRE	451,5382	109	< 0,0001	***
SCOL	0	109	1	NS

GL: grados de libertad, Nivel de significancia ***, **, NS (p < 0,0001, p < 0,01, no significativo)

Según el análisis *post hoc* de comparación múltiple realizado entre cada dos ecotipos, se resumen las diferencias significativas encontradas.

Con respecto al descriptor GLONP, el ecotipo 104 tuvo una longitud del pico de la gluma significativamente superior a los ecotipos 2, 61, 68, 95, 102, 126, 131, 137, 143,

144, 145, 147, 149, 150, 151, 152, 154, 155, 156, 160, 162, 168, 174, 175, 177, 179, 186, 188, 189, 192 y 195.

En los descriptores GCOL y BCOL, los resultados no permiten encontrar diferencias significativas entre los ecotipos 68, 92, 96, 111, 112, 123, 134, 147, 163, 170, 171, 172, 173, 177, 173, 176, 177, 180, 181, 183, 190 y 195, ya que la mayoría presenta en mayor o menor grado mezclas de glumas blancas y marrones. Pero, sí que se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos de glumas marrones 68, 173, 177 y 195, y los ecotipos de glumas blancas 19, 21, 22, 61, 70, 93, 95, 97, 98, 99, 100, 101, , 102, 106, 107, 109, 110, 113, 114, 115, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 124, 126, 127, 130, 131, 132, 133, 135, 137, 138, 139, 140, 141, 143, 144, 145, 146, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 160, 162, 164, 167, 168, 169, 174, 175, 179, 184, 186, 187, 188, 189, 191, 192, 193 y 196. Y también se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos 68 y 195, y los ecotipos 3, 91, 94, 103, 104, 116, 125, 128, 129, 136, 142, 158, 165, 166, 182 y 185.

En cuanto a la pubescencia de la espiga (GEVELL), existe un grupo de ecotipos (149, 153, 154, 156, 175, 179, 186, y 187) con altos valores de vello (2,75-3,00), que tienen significativamente más vello que los ecotipos totalmente lampiños 3, 19, 21, 22, 68, 70, 91, 93, 94, 96, 97, 99, 103, 104, 106, 107, 108, 110, 111, 112, 119, 120, 123, 124, 128, 132, 133, 139, 140, 141, 146, 147, 158, 159, 163 a 173, 176, 177, 181, 182, 185, 190, 191, 194, 195 y 196. Los ecotipos vellosos 154 y 179, también se diferenciaron de los ecotipos lampiños 92, 109, 115, 121, 122, 129, 134, 136 y 142. El resto de los ecotipos, al tener algunas espigas vellosas entre las lampiñas, no se pudieron diferenciar significativamente de los ecotipos más vellosos.

Con respecto al descriptor GFHO, se encontraron diferencias significativas entre ecotipos con glumas de hombro recto y ecotipos de glumas con hombro inclinado. En concreto, existe un grupo de ecotipos con un hombro de la gluma recto (19, 70, 91, 94, 99, 103, 106, 107, 108, 116, 125, 136), y tienen una forma distinta a los ecotipos de hombro inclinado (113, 127, 149, 151). Además, los ecotipos 3, 21, 22, 118, 128, 142, de hombro recto, también se diferencian de los ecotipos 95, 113, 127, 149, 151, 156, 189 (hombro inclinado).

En cuanto al descriptor BLON, se detectó un grupo de ecotipos 68, 166, 173, 177 y 195, que tienen la barba de la gluma significativamente más larga que los ecotipos 19, 95, 96, 126, 131, 135, 137, 153, 156, 188. Además, los ecotipos 68 y 177 también tienen barbas más largas que los ecotipos 99, 119, 121, 122, 127, 142, 154, 155, 174, 175, 186,

187, 189 y 192. Finalmente, el ecotipo 68 también supera significativamente en longitud de barba a los ecotipos 143, 145, 150, 151, 152 y 153.

Con respecto al descriptor TCOL, se encontraron diferencias significativas entre los ecotipos de pedúnculo del tallo rojo en madurez 68, 173, 177, 194, con todos los demás ecotipos, que lo tienen amarillo, exceptuando el 92, 93, 104, 111, 139, 142, 157, 158, 163, 172, 175, 176, 183 y 190, en las que se encontraron los dos tipos de color de tallo.

Con respecto al descriptor TSEC, se detectaron diferencias significativas entre los ecotipos de tallo medio macizo 2, 3, 21, 22, 99, 101, y el resto de ecotipos (de tallo hueco), excepto algunos ecotipos en los que se detectaron diferentes grosores según el año o el bloque (19, 70, 106, 107 y 108). En el caso de los ecotipos 3, 22, 99 y 101, también tuvieron un tallo más macizo significativamente que los ecotipos 115, 121, 124, 125 y 136.

En los descriptores GFORP, STAM, GIVELL, GANC y HCRE, el análisis *post hoc* de comparación múltiple no encontró diferencias significativas entre ninguna de las parejas de ecotipos testados.

3.3. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA

De la caracterización morfológica llevada a cabo en las 110 accesiones ensayadas en campo (incluyendo los testigos), solo se encontraron cuatro variedades botánicas: var. *erythrospermum* (Körn.) Mansf., var. *ferrugineum* (Alef.) Mansf., var. *hostianum* (Clem.) Mansf. y var. *barbarossa* (Alef.) Mansf.

Con respecto a dos importantes descriptores utilizados en la clasificación de variedades, presencia de barbas en espigas y color de la semilla, se constató que las 110 accesiones testadas tenían barbas y un grano rojo/pardo, con coloración pardo-oscuro al fenol. En estos dos descriptores no se encontró, por tanto, ninguna variabilidad, aunque existen diferencias de tonalidades dentro del color pardo de la semilla.

De las 6.600 espigas analizadas durante los tres años de ensayo, se clasificaron 3.998 como var. *erythrospermum* (60,58%), 875 de la var. *ferrugineum* (13,26%), 1.670 como var. *hostianum* (25,30%), y 57 como var. *barbarossa* (0,86%). Las accesiones con glumas blancas/amarillas suponen más del 85% del total.

Tabla 38. Accesiones de trigo agrupadas según la clasificación de Lagasca y Clemente

Tipo de glumas	Barbas	Color de la gluma	Variedad Botánica	Nº Accesoión	Cantidad	Porcentaje
Glabras	Presentes	Blanca/ amarilla	<i>erythrospermum</i>	2, 3, 19, 21, 22, 70, 91, 92, 93, 94, 97, 99, 100, 101, 103, 104, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 128, 129, 130, 132, 133, 134, 135, 136, 138, 139, 140, 141, 142, 146, 157, 158, 159, 160, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 176, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 191, 193, 194, 196	72	65,45
		Roja/marrón	<i>ferrugineum</i>	68 (Callobre), 96, 147, 172, 173, 177, 190, 195 (Caaveiro)	8	7,27
Pubescentes	Presentes	Blanca/ amarilla	<i>hostianum</i>	61, 95, 98, 102, 113, 114, 126, 127, 131, 137, 143, 144, 145, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 162, 174, 175, 179, 186, 187, 188, 189, 192	30	27,27
		Roja/marrón	<i>barbarossa</i>		0	0

*En negrita, accesiones con mezcla de variedades botánicas

Aunque en muchas de las accesiones con glumas pubescentes, existen mezcladas algunas espigas lampiñas, y en muchas accesiones con espiga amarilla se detectan algunas espigas marrones, la clasificación de estas (tabla 38) se realizó atendiendo a los valores modales de cada accesoión. La variedad pubescente *barbarossa*, es muy infrecuente, y las espigas encontradas estaban dentro de accesiones con mayoría de espigas de otras variedades, con lo que no existe ninguna accesoión que sea predominantemente *barbarossa*.

Para estudiar la distribución de las muestras con respecto a la clasificación de las distintas variedades botánicas, se realizó un análisis de varianza por el método de Kruskal-Wallis, que es análogo al ANOVA de una vía, pero para variables no paramétricas, con las 6.600 espigas analizadas durante los tres años de ensayo.

Tabla 39. Estadísticos simples de las cuatro variedades botánicas en los 110 ecotipos de trigo

Var Bot	N obs	Descrip	Media	σ	Mín	Máx	Var Bot	N obs	Media	σ	Mín	Máx
ERYT	3998	GLONP	5,65	1,20	3,0	9,0	FERR	875	5,59	1,06	3,0	9,0
		GCOL	1,00	0,00	1,0	1,0			2,00	0,00	2,0	2,0
		GIVELL	3,18	0,58	3,0	7,0			3,20	0,62	3,0	7,0
		GEVELL	0,00	0,00	0,0	0,0			0,00	0,00	0,0	0,0
		GFOR	5,21	0,89	5,0	9,0			5,10	0,63	3,0	9,0
		GANC	4,87	0,85	2,0	9,0			4,97	0,64	3,0	7,0
		GFHO	4,15	2,22	0,0	9,0			3,61	2,12	1,0	9,0
		SFOR	3,09	0,46	1,0	7,0			3,07	0,38	3,0	5,0
		BLON	3,45	0,50	1,0	5,0			3,60	0,49	3,0	4,0
		BCOL	1,00	0,00	1,0	1,0			4,00	0,00	4,0	4,0
		BRUG	1,00	0,00	1,0	1,0			1,00	0,00	1,0	1,0
		STAM	4,98	0,23	3,0	7,0			5,00	0,18	3,0	7,0
		GFORP	1,39	1,01	1,0	9,0			1,47	1,10	1,0	9,0
HOST	1670	GLONP	5,01	0,89	3,0	9,0	BARB	57	5,25	1,14	3,0	9,0
		GCOL	1,00	0,00	1,0	1,0			2,00	0,00	2,0	2,0
		GIVELL	3,63	0,97	0,0	7,0			3,49	0,87	3,0	5,0
		GEVELL	3,00	0,00	3,0	3,0			3,00	0,00	3,0	3,0
		GFOR	5,23	0,94	5,0	9,0			5,21	0,90	5,0	9,0
		GANC	3,96	1,09	1,0	9,0			4,65	0,94	3,0	7,0
		GFHO	2,44	2,08	1,0	9,0			3,25	2,27	1,0	7,0
		SFOR	3,09	0,51	1,0	7,0			3,07	0,37	3,0	5,0
		BLON	3,24	0,44	1,0	5,0			3,35	0,48	3,0	4,0
		BCOL	1,00	0,00	1,0	1,0			4,00	0,00	4,0	4,0
		BRUG	1,00	0,00	1,0	1,0			1,00	0,00	1,0	1,0
		STAM	4,98	0,22	3,0	5,0			5,00	0,00	5,0	5,0
		GFORP	1,29	0,82	1,0	7,0			1,28	0,88	1,0	5,0

Var bot: variedad botánica; N obs: número de observaciones; σ : desviación estándar; Mín: valor mínimo; Máx: valor máximo; ERYT: var. *erythrospermum*; FERR: var. *ferrugineum*; HOST: var. *hostianum*, y BARB: var. *barbarossa*

En la tabla 39 se muestran los estadísticos simples para cada variedad botánica, y en la tabla 40 se muestra el resultado del análisis Kruskal-Wallis, en donde se visualizan las diferencias significativas encontradas entre las distintas variedades botánicas para descriptores morfológicos.

Tabla 40. Análisis Kruskal-Wallis de 13 descriptores agromorfológicos cualitativos en las 110 accesiones de trigo autóctono gallego, agrupadas en cuatro variedades botánicas

Descriptor	Chi-cuadrado	GL	p-valor	Nivel de significancia
GLONP	415,386	3	< 0,0001	***
GCOL	6599,000	3	< 0,0001	***
GIVELL	479,548	3	< 0,0001	***
GEVELL	6599,000	3	< 0,0001	***
GFOR	13,950	3	0,0030	**
GANC	1199,691	3	< 0,0001	***
GFHO	770,977	3	< 0,0001	***
SFOR	0,965	3	0,8097	NS
BLON	360,426	3	< 0,0001	***
BCOL	6599,000	3	< 0,0001	***
BRUG	0,000	3	0	NS
STAM	6,048	3	0,1093	NS
GFORP	17,774	3	0,0005	***

GL: grados de libertad, Nivel de significancia ***, **, NS (p<0,001, p<0,01, no significativo)

Como se muestra en la tabla 40, existen diferencias significativas en 10 de los 13 descriptores cualitativos morfológicos analizados en las espigas, con respecto a las cuatro variedades botánicas. En el tamaño del grano (STAM), rugosidad de las barbas (BRUG) y forma del grano (SFOR), no existieron diferencias significativas.

Para poder calcular las diferencias entre las variedades botánicas, se utilizó el método de Dwass, Steel, Critchlow-Fligner (DSCF), test *post-hoc* de comparación múltiple para poder realizar todas las posibles comparaciones entre grupos, tomados de dos en dos. Este método permitió detectar las siguientes diferencias.

Con respecto a la variable longitud del pico de la gluma (GLONP), las variedades *erythrospermum* (ERYT) y *ferrugineum* (FERR) fueron significativamente (***) mayores a la variedad *hostianum* (HOST), y la variedad *erythrospermum* fue significativamente (*) mayor a la variedad *barbarossa* (BARB).

Con respecto a las variables color de la gluma (GCOL) y color de las barbas (BCOL), las variedades *erythrospermum* y *hostianum*, fueron significativamente diferentes (***) a las variedades *ferrugineum* y *barbarossa*, ya que las primeras tienen color blanco/amarillento, y las segundas tienen color pardo/rojo.

Con respecto a la variable vellosidad interna de la gluma (GIVELL), las variedades *erythrospermum* y *ferrugineum* tuvieron significativamente (***, **, respectivamente) menor vellosidad que las variedades *hostianum* y *barbarossa*.

Con respecto a la variable vellosidad externa de la gluma (GEVELL), las variedades *erythrospermum* y *ferrugineum*, fueron significativamente diferentes (***) a las variedades *hostianum* y *barbarossa*, ya que las primeras no tienen vellosidad externa y las segundas sí que tienen vellosidad.

Con respecto a la variable forma de la gluma (GFOR), la variedad *ferrugineum* tuvo una gluma significativamente menos alargada (**) que las variedades *hostianum* y *erythrospermum*.

Con respecto a la variable anchura del hombro de la gluma (GANC), las variedades *erythrospermum*, *ferrugineum* y *barbarossa*, tuvieron una anchura significativamente (***) mayor que la variedad *hostianum*. La variedad *ferrugineum* tuvo una anchura significativamente (**) mayor que las variedades *erythrospermum* y *barbarossa*.

Con respecto a la variable forma del hombro de la gluma (GFHO), las variedades *erythrospermum*, *ferrugineum* y *barbarossa*, tuvieron un hombro de la gluma significativamente (***, **, respectivamente) más recto que la variedad *hostianum*. Por su parte, la variedad *erythrospermum*, tuvo a su vez un hombro más recto significativamente (***, **, respectivamente) que las variedades *ferrugineum* y *barbarossa*.

Con respecto al descriptor longitud de las barbas (BLON), en las variedades *erythrospermum* y *ferrugineum*, fueron significativamente mayores (***) que en la variedad *hostianum*, y en la variedad *ferrugineum* fue significativamente mayor (***) que en las variedades *erythrospermum* y *barbarossa*.

Con respecto al descriptor forma del pico de la gluma (GFORP), en la variedad *ferrugineum* fue significativamente más recto (***) que en la variedad *hostianum*, y en la variedad *erythrospermum*, fue significativamente más recto (*) que en la variedad *hostianum*.

3.4. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DEL GRANO

3.4.1. Análisis de la varianza (ANOVA)

Para los cuatro descriptores cuantitativos de calidad de grano (PHL, PROT, SDSS, PMS) se realizó un análisis de la varianza (ANOVA), empleando el test de Tukey para la

separación de medias. El nivel de significación fue el 5%, tanto en la significación del modelo, como en la significación de los factores y en la separación de medias. Previamente se estudio la normalidad de la población respecto de dichos descriptores, a través de los histogramas (ver anexo 4), la Asimetría y la Curtosis (tabla 41).

Tabla 41. Valores para el estudio de la normalidad de PHL, PROT, SDSS, PMS

Descriptores	Asimetría	Curtosis
PHL	-0,52	-0,57
PROT	0,20	-0,03
SDSS	0,07	-0,69
PMS	-0,01	-0,81

Con estos datos podemos validar el supuesto de normalidad de la población.

La F calculada tanto para el modelo como para el factor genotipo fue altamente significativa para todos los descriptores de calidad (tablas 42 y 43), por lo que las diferencias de medias entre las accesiones fueron significativas (ver figuras 44 a 47). La R^2 de todos los descriptores es muy alta ($>70\%$), lo que indica que el modelo explica un alto porcentaje de la variabilidad total observada, y que la varianza debida al error experimental es pequeña. Los CV del ensayo se mantuvieron por debajo del 10%, lo cual es correcto para ensayos de campo.

Tabla 42. Estadísticos simples de descriptores de calidad de grano (PHL, PROT, SDSS, PMS)

Descriptores	R^2	CV	\bar{X}	$\sigma_e(\sqrt{CM_e})$	Máx	Mín	GL	F_{modelo}
PHL	0,89	1,20	80,54	0,97	83,13	77,78	338	23,50***
PROT	0,72	4,84	14,10	0,68	15,06	12,71	338	7,50***
SDSS	0,87	9,37	53,53	5,01	71,92	40,00	338	20,31***
PMS	0,86	5,08	50,15	2,55	57,25	37,50	338	17,96***

R^2 = coef. determinación del modelo; CV= coef. variación del error experimental ($\sqrt{CM_e} \cdot 100 / \bar{X}$); \bar{X} = promedio; $\sqrt{CM_e}$ = desviación estándar del error experimental; Máx= valor máximo; Mín= valor mínimo; GL= grados de libertad; F_{modelo} = valor F del modelo

En la tabla 42 se muestran las varianzas obtenidas del conjunto de todas las accesiones debido al factor genotipo y año, para cada descriptor de calidad. Los bajos valores de desviación estándar (σ) y coeficiente de variación (CV) debido al genotipo, para las variables PHL y PROT, nos indican que serán variables poco discriminantes

entre las accesiones. Sin embargo, las variables SDSS y PMS tienen mayores varianzas genotípicas, con lo que podrían usarse como variables en un estudio posterior multivariante, ya que cuanto mayor sea la variabilidad de los datos (varianza) se considera que existe más información.

Se puede observar que la desviaciones estándar y CV, debido al año climático, son muy superiores a las obtenidas debido al efecto de los distintos genotipos (ver tabla 43). Es decir, la varianza en los cuatro descriptores de calidad, debida a los diferentes años climatológicos, es muy superior a la varianza existente debido a las diferencias genotípicas de las accesiones. Además, la interacción genotipo*año fue muy significativa para los cuatro descriptores, y nos muestra que a los distintos genotipos no les afecta de la misma manera los cambios climatológicos de los tres años (ver tabla 43).

Tabla 43. Estadísticos simples desglosados por factores, de parámetros PHL, PROT, SDSS, PMS

Descriptores	\bar{X}	CV_{genot}	σ_{genot} ($\sqrt{CM_{\text{genot}}}$)	$CV_{\text{año}}$	$\sigma_{\text{año}}$ ($\sqrt{CM_{\text{año}}}$)	F_{genot}	$F_{\text{año}}$	$F_{\text{genot}*\text{año}}$
PHL	80,54	3,75	3,02	67,38	54,27	4,24***	3158,5***	2,31***
PROT	14,10	12,20	1,72	118,82	16,76	2,45***	602,1***	2,58***
SDSS	53,53	47,96	25,67	378,27	202,47	8,82***	1631,0***	2,97***
PMS	50,15	33,81	16,96	88,15	44,22	18,26***	301,2***	2,43***

$CV_{\text{genot(año)}}$ = coef. variación debida al genotipo(año) ($\sqrt{CM_{\text{genot(año)}}*100/\bar{X}}$); \bar{X} = media; $\sigma_{\text{genot(año)}}$ = desviación típica debida al genotipo (año); $F_{\text{año}}$ = F del factor año; F_{genotipo} = F del factor genotipo; $F_{\text{genot}*\text{año}}$ = F del factor genotipo*año

3.4.2. Separación de medias por accesiones/ecotipos

Se utilizó test de Tukey para hacer la separación de medias (ver figuras 49, 50, 51 y 52). Los testigos usados fueron la variedad Callobre (68), variedad Caaveiro (195), y líneas de mejora E1L2 (194) y E16L30 (196).

Con respecto al descriptor PHL, ningún ecotipo fue superior a los testigos. La media de la colección y de los testigos fue de 80,54 y 82,25 kg/hl, respectivamente, existiendo un rango de valores en la colección desde 83,13 kg/hl a 78,78 kg/hl. Los mejores genotipos fueron 173, 177, 107, 181, 128, 157 y 139, junto con los cuatro testigos, no existiendo diferencias entre ellos, pero superando significativamente a gran parte de las accesiones.

En cuanto al descriptor PROT, ningún ecotipo fue superior a los testigos Callobre, Caaveiro y 196, pero el 183 superó al testigo 194 (ver figura 50). La media de la colección en contenido proteico del grano fue de 14,10% (s.m.s), algo inferior a la media de los cuatro testigos, 14,40% (s.m.s), existiendo una variación desde 15,06% (s.m.s) a 12,71% (s.m.s) en el conjunto de las accesiones. Los ecotipos 183 y 173, y el testigo 196, superaron significativamente a 34, 32 y 28 genotipos, respectivamente.

En el caso al descriptor PMS, ninguna accesión superó significativamente a Caaveiro, Callobre y 194 (ver figura 51). Sin embargo, ocho accesiones superaron significativamente al testigo 196. Las medias de PMS de los testigos Caaveiro y Callobre, superaron significativamente a 54 y 47 accesiones, respectivamente. La media de PMS de la colección y de los testigos fue de 50,15 g y 54,35 g, respectivamente. Las tres únicas accesiones con valores por debajo de 40 g (110, 97, 146) corresponden a las que tuvieron mayores valores de encamado, lo que evidencia un llenado del grano defectuoso.

El descriptor SDSS, que está relacionado directamente con la calidad del gluten del grano, y por tanto con la fuerza (W) del trigo, varió desde un máximo de 71,92 mm a un mínimo de 40,00 mm. Existe mayor variabilidad que en los anteriores descriptores. El bajo valor de la media anual del año 2011-2012, puede deberse en parte a la no aplicación de fungicidas ese año, con respecto a las otras dos campañas. La media de SDSS de la colección y de los testigos fue de 53,53 mm y 60,74 mm, respectivamente. Los valores de los testigos Caaveiro (195) y 196 (64,75 y 70,83 mm, respectivamente), superaron ampliamente a Callobre (68) y 194 (54,58 y 52,83 mm, respectivamente). Once y quince accesiones, superaron significativamente a los testigos Callobre y 194, respectivamente, pero ninguna accesión superó a los testigos Caaveiro y 196 (ver figura 52).

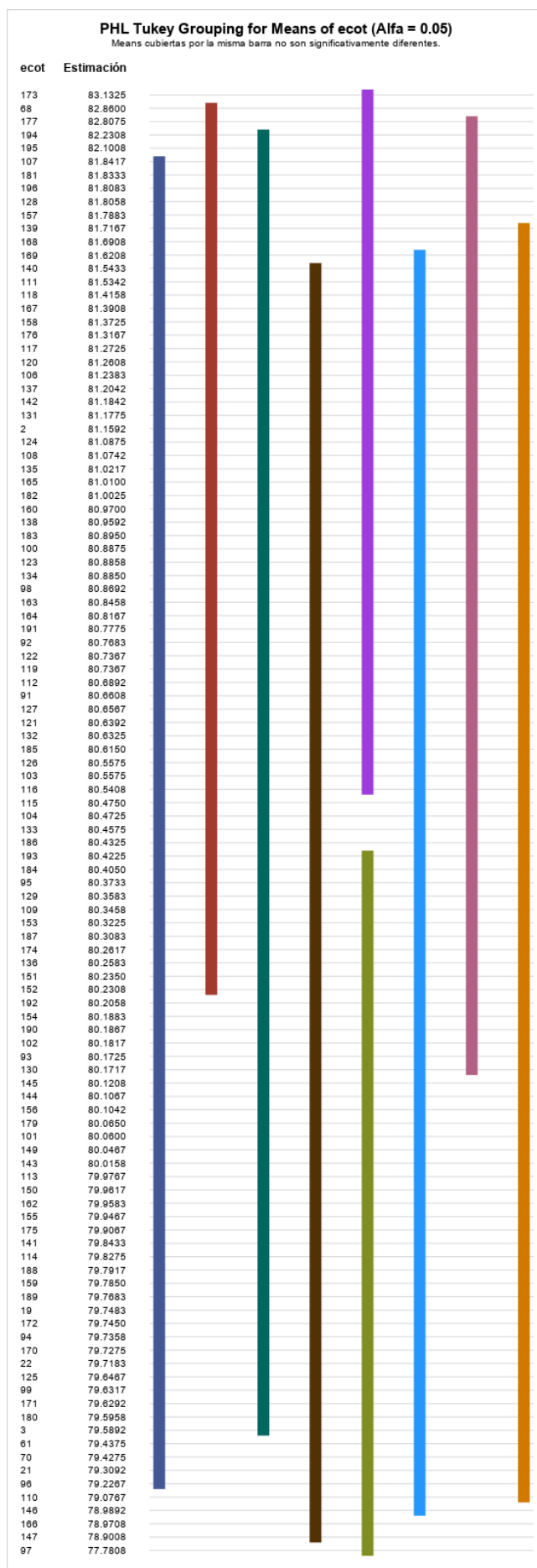


Figura 49. Separación de medias de ecotipos según Tukey, para PHL

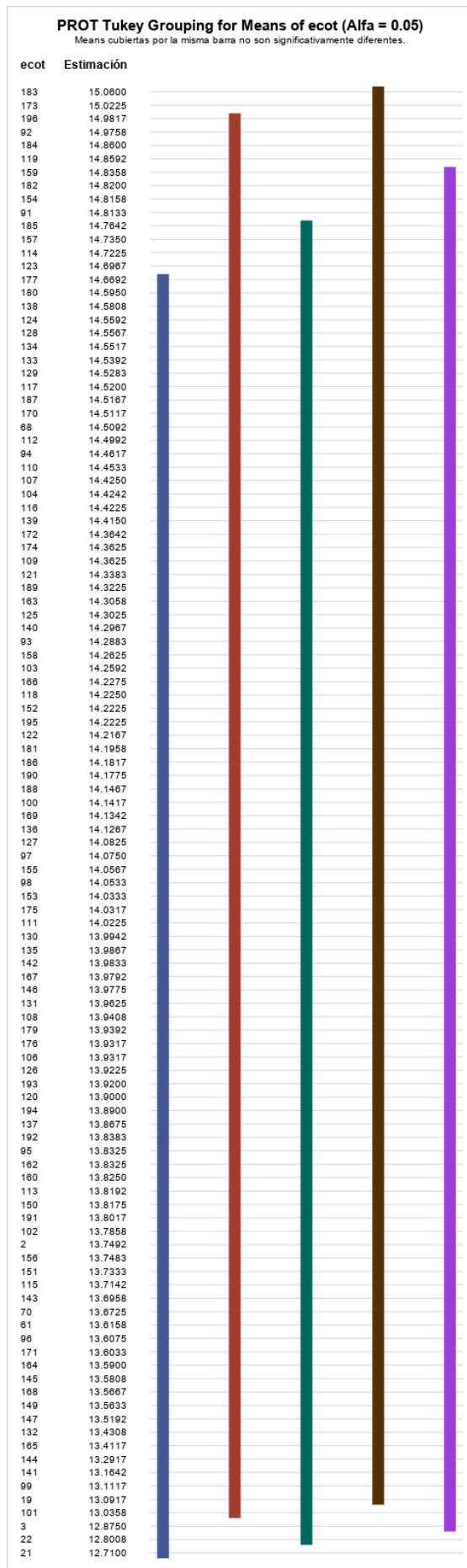


Figura 50. Separación de medias de ecotipos según Tukey, para PROT

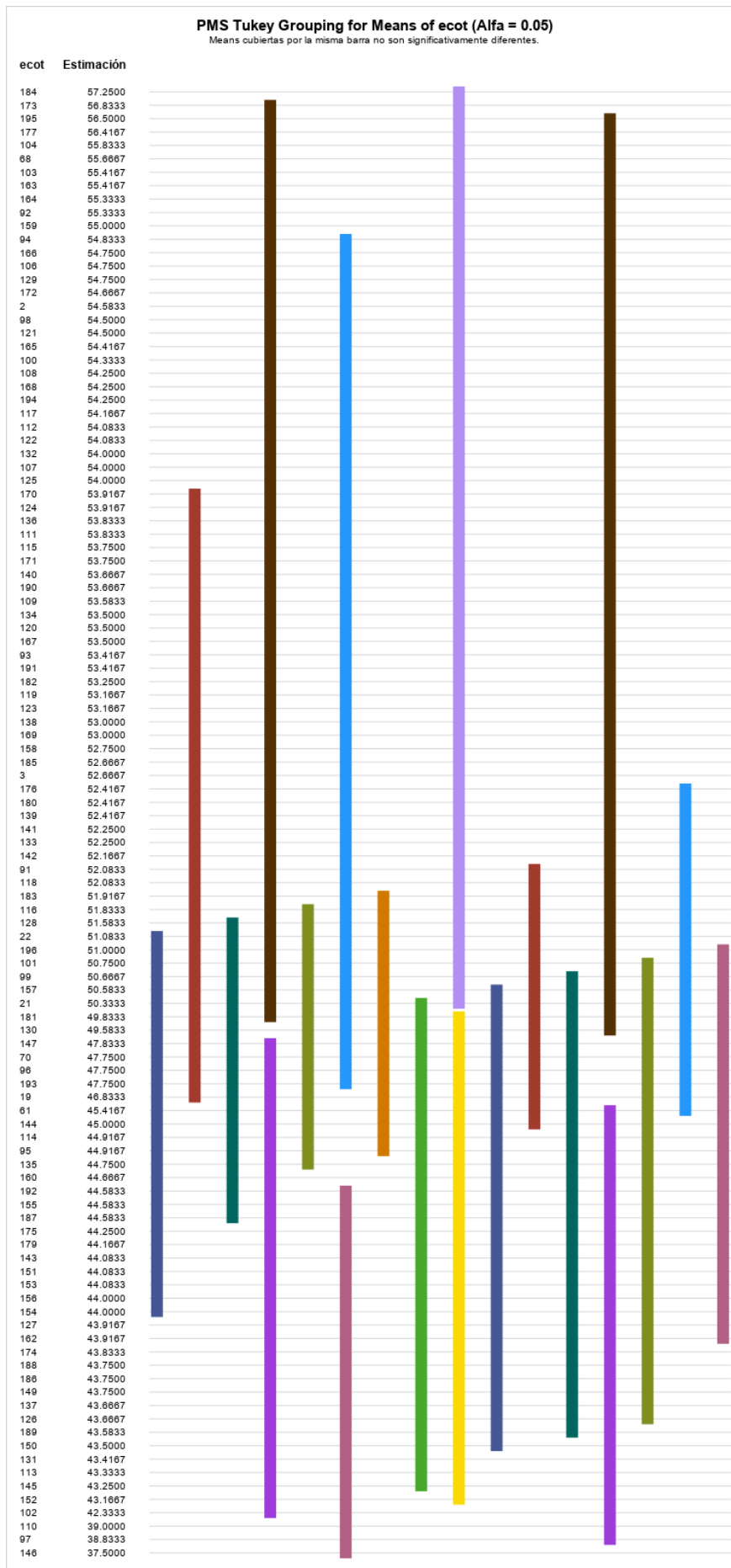
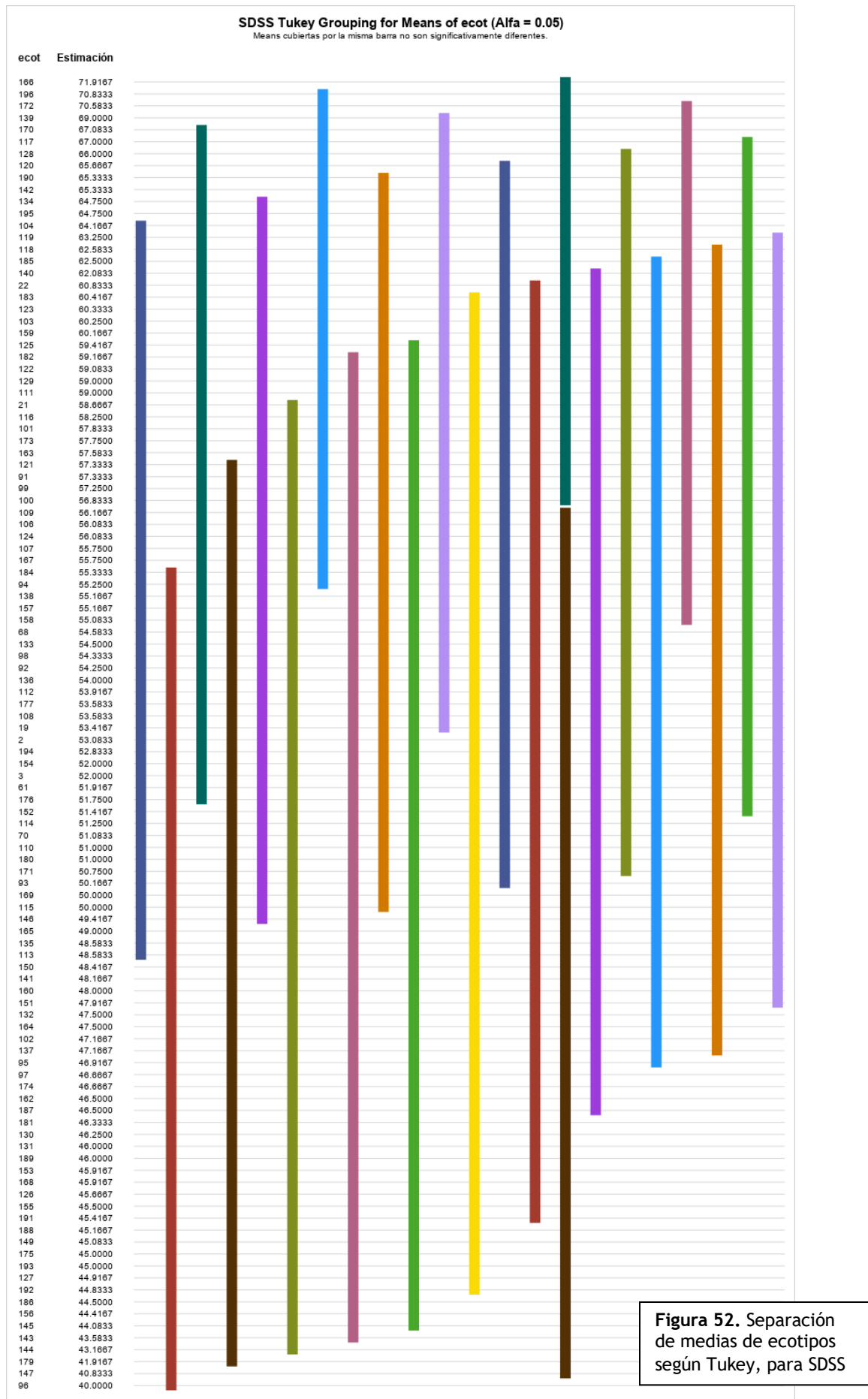


Figura 51. Separación de medias de ecotipos según Tukey, para PMS



3.4.3. Separación de medias por año

En la tabla 44 se resumen las medias anuales de los cuatro descriptores de calidad de grano, observándose que existió una diferencia significativa entre los tres años (ver también figuras 57, 59, 61, 63). Por tanto, se muestra que una gran parte de la variabilidad de estos descriptores se debe a las condiciones climáticas anuales, ya que los genotipos estudiados eran los mismos y las labores realizadas fueron las mismas (excepto la falta de fungicida en 2012).

Tabla 44. Medias anuales de descriptores de calidad de grano

Años	PHL	PROT	SDSS	PMS
2011-12	82,36 a	13,85 b	42,65 c	51,73 a
2012-13	81,68 b	15,00 a	61,07 a	47,77 c
2012-14	77,58 c	13,46 c	56,86 b	51,00 b

Con respecto al descriptor PHL, se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 53), consiguiéndose el mayor valor (82,37 kg/hl) el primer año (2012) y el mínimo valor (77,58 kg/hl) el tercer año (2014). El tercer año (2014) tuvo una disminución muy acusada la media anual de PHL, debido probablemente a efectos climáticos.

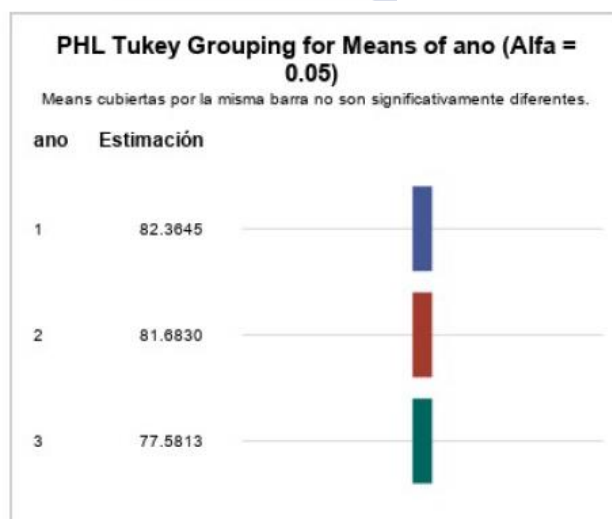


Figura 53. Agrupamiento de medias por año de variable PHL

La distribución de los datos del descriptor PHL es muy similar y homogénea para todos los años (ver figura 54) y muy centrados en la media, si bien en el año 2012 el rango intercuartil se acortó ligeramente con respecto al resto de años.

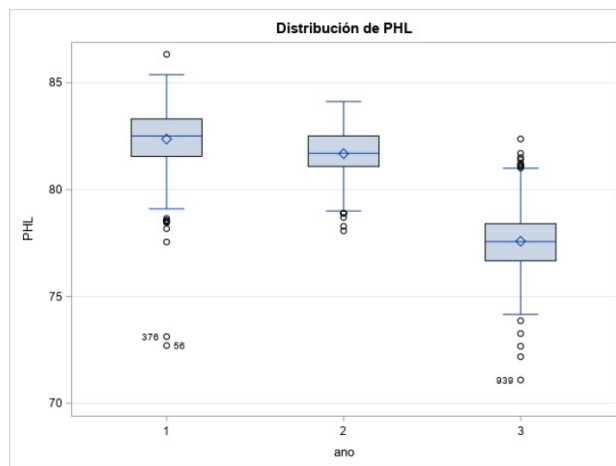


Figura 54. Distribución de variable PHL por año

En el descriptor PROT se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 55), consiguiéndose el mayor valor (15,00% sms) el segundo año (2013) y el mínimo valor (13,46% sms) el tercer año (2014).

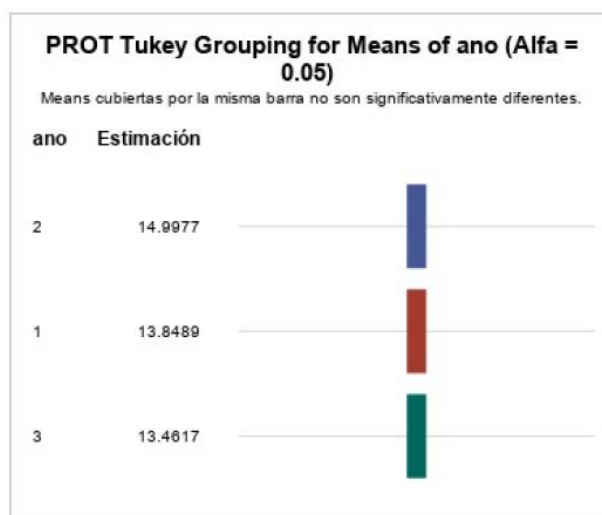


Figura 55. Agrupamiento de medias por año de variable PROT

La distribución anual de los datos en el descriptor PROT es muy homogénea y similar todos los años (ver figura 56), teniendo un rango intercuartil equivalente, es decir, una dispersión de datos similar.

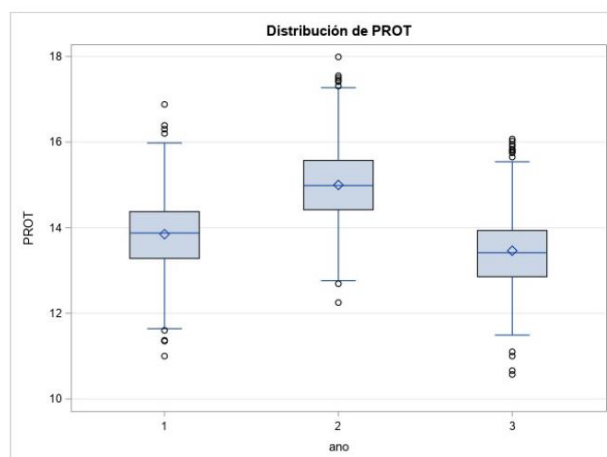


Figura 56. Distribución de variable PROT por año

En el descriptor SDSS también se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 57), consiguiéndose el mayor valor (61,07) el segundo año (2013) y el mínimo valor (42,64) el primer año (2012). Esta diferencia tan acusada entre el primer año y el resto debe estar ocasionada por la falta de aplicación de fungicidas el primer año.

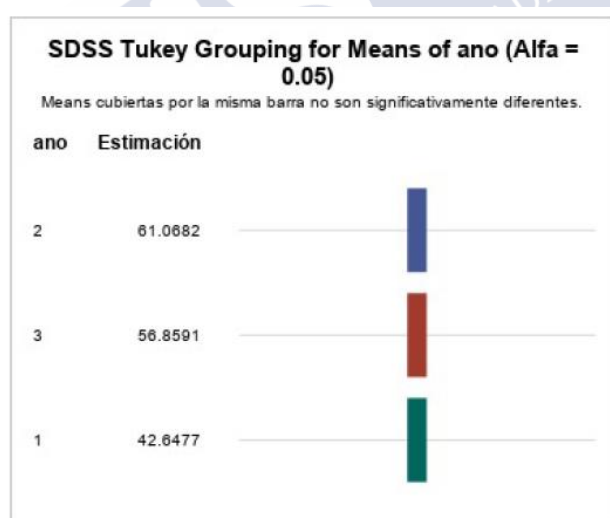


Figura 57. Agrupamiento de medias por año de variable SDSS

En el caso del descriptor SDSS, la dispersión de datos fue algo menor el primer año (ver figura 58), con un rango intercuartil menor, aparte de una media mucho menor.

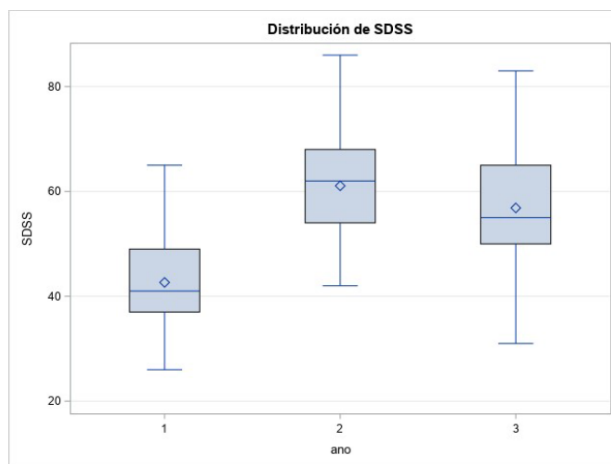


Figura 58. Distribución de variable SDSS por año

Con respecto al descriptor PMS, se obtuvo una diferencia significativa entre todos los años (ver figura 59), consiguiéndose el mayor valor (51,7 g) el primer año (2012) y el mínimo valor (47,7 g) el segundo año (2013). El peor dato de 2013 se debe a a un peor año con llenado de grano defectuoso.

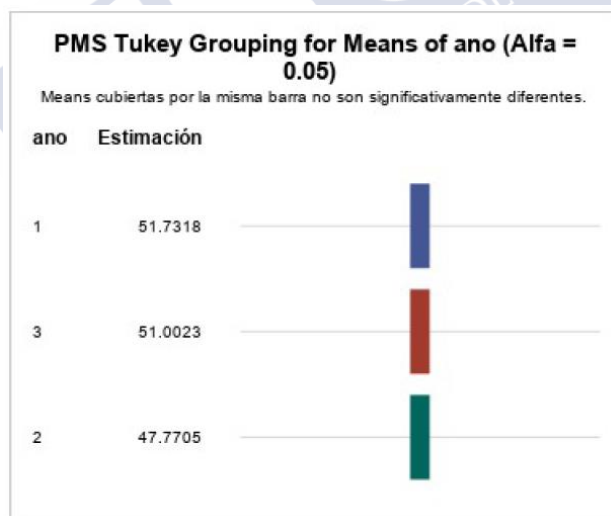


Figura 59. Agrupamiento de medias por año de variable PMS

En el caso del descriptor PMS, la dispersión de datos fue algo heterogénea, siendo similar el primer y tercer año, pero con un rango intercuartil menor el segundo año (ver figura 60).

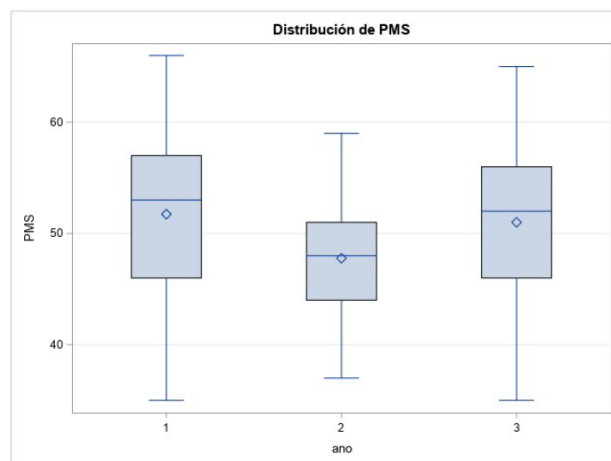


Figura 60. Distribución de variable PMS por año

3.4.4. Correlación entre parámetros de calidad de grano

A través del coeficiente de correlación de Pearson se testaron las posibles correlaciones entre los descriptores de calidad de grano y el rendimiento. Como todos los descriptores son cuantitativos y tienen una distribución normal, se puede utilizar el citado coeficiente.

Tabla 45. Matriz de correlaciones de Pearson y significancia (p-valor), de descriptores PHL, PROT, SDSS, PMS, RDTO

	PHL	PROT	SDSS	PMS	RDTO
PHL	1,0000	0,3163	-0,2121	0,1368	-0,0862
p-valor		<0,001	<0,001	<0,001	0,0017
PROT	0,3163	1,0000	0,4351	-0,0901	-0,1383
p-valor	<0,001		<0,001	0,0011	<0,001
SDSS	-0,2121	0,4351	1,0000	0,1364	0,0491
p-valor	<0,001	<0,001		<0,001	0,0745
PMS	0,1368	-0,0901	0,1364	1,0000	0,1242
p-valor	<0,001	<0,001	<0,001		<0,001
RDTO	-0,0862	-0,1383	0,0491	0,1242	1,0000
p-valor	0,0017	<0,001	0,0745	<0,001	

La matriz muestra una moderada correlación positiva entre PHL y PROT ($r = 0,316^{***}$), y entre PROT y SDSS ($r = 0,435^{***}$), siendo las dos muy significativas (tabla 45). El tamaño del efecto, medido mediante el cuadrado del coeficiente de correlación r , es de $R^2 = 0,10$ (bajo) y $R^2 = 0,189$ (medio), respectivamente. El resto de las correlaciones

entre descriptores de calidad, aunque también significativas, son más débiles. Las correlaciones entre PMS, y los valores de PHL y SDSS, fueron ambas positivas ($r = 0,136^{***}$; $R^2 = 0,018$), y se observaron dos correlaciones negativas, entre PHL y SDSS ($r = -0,212$; $R^2 = 0,044$), y entre PROT y PMS ($r = -0,09^{**}$; $R^2 = 0,008$). En el anexo 5 se pueden ver los diagramas de dispersión calculados entre cada par de variables.

Con respecto a las correlaciones de los descriptores de calidad con la variable rendimiento, se observó que la correlación entre SDSS y RDTO fue no significativa, y el resto de las correlaciones fueron significativas pero débiles. Las correlaciones calculadas entre PMS y RDTO ($r = 0,124^{***}$), PROT y RDTO ($r = -0,138^{***}$), y PHL y RDTO ($r = -0,086$; $R^2 = 0,044$), todas con un tamaño del efecto muy bajo ($R^2 < 0,02$).

3.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Para poder conocer la estructura poblacional de las accesiones de trigo, y conseguir formar grupos homogéneos e identificables, se utilizaron ocho descriptores cuantitativos y 14 cualitativos agromorfológicos, así como los cuatro descriptores de calidad de grano. Se excluyeron de este análisis los descriptores cualitativos SCOL y BRUG por ser iguales en todas las accesiones, y el descriptor SFOR por tener una mínima varianza.

En la tabla 46 se muestran los estadísticos descriptivos de los 26 descriptores utilizados en el análisis multivariante, más los tres descriptores excluidos.

Tabla 46. Estadísticos descriptivos de los caracteres cuantitativos y cualitativos en los 110 ecotipos gallegos estudiados. Desv.típica: calculada con los valores medios de los tres años de cada ecotipo

Descriptor	Media	Mínimo	Máximo	Desv.típica
PHL	80,54	77,78	83,13	0,87
PROT	14,10	12,71	15,06	0,50
SDSS	53,53	40,00	71,92	7,41
PMS	50,15	37,50	57,25	4,90
PALT	141,03	127,97	155,73	4,60
ELON	10,51	9,19	11,43	0,46
EESPN	17,58	15,15	19,67	0,69
EDEN	17,50	16,17	19,91	0,68
DESP	103,42	94,25	113,00	3,49
DMAD	147,06	134,58	153,50	4,17
ENC	16,35	2,50	65,42	10,40
RDTO	2327,77	1686,50	3300,08	267,80
GLONP	5,48	4,50	6,63	0,53
GFORP	1,37	1,10	2,10	0,19
GCOL	1,14	0,98	2,00	0,21
GIVELL	3,30	3,00	3,80	0,19
GEVELL	0,79	0,00	2,65	0,88
GFOR	5,20	5,00	5,60	0,15
GANC	4,65	3,51	5,43	0,52
GFHO	3,64	1,67	5,88	1,17
BLON	3,41	3,10	3,87	0,20
BCOL	1,44	0,98	4,00	0,64
STAM	4,98	4,70	5,07	0,05
TCOL	1,07	1,00	2,00	0,20
TSEC	3,13	3,00	5,08	0,44
HCRE	4,98	4,00	6,58	0,44
SFOR	3,09	2,87	3,37	0,08
SCOL	2,00	2,00	2,00	0,00
BRUG	1,00	0,98	1,00	0,00

PHL: Peso hectolítrico (kg/hl); PROT: Porcentaje de proteína; SDSS: Volumen de sedimentación en SDS (mm); PMS: Peso de mil granos (g); EESPN: N° de espiguillas por espiga; EDEN: Densidad de la espiga; DESP: Días desde la siembra al espigado; DMAD: Días desde el espigado hasta madurez fisiológica; ENC: Encamado; RDTO: Rendimiento (kg/ha); GLONP: Longitud del pico de la gluma inferior; GFORP: Forma del pico de la gluma inferior; GCOL: Color de la gluma; GIVELL: Vellosoidad interna de la gluma; GEVELL: Vellosoidad externa de la gluma; GFOR: Forma de la gluma inferior; GANC: Anchura del hombro de la gluma inferior; GFHO: Forma del hombro de la gluma inferior; BLON: Longitud de las barbas (cm); BCOL: Color de las barbas; BRUG: Rugosidad de las barbas; STAM: Tamaño del grano; SFOR: Forma del grano; SCOL: Color de la semilla; TCOL: Color del tallo; HSEC: Hábito de crecimiento

3.5.1. Análisis CLÚSTER

Previo al análisis clúster se realizó un análisis de componentes principales (ACP), pero al explicar poca variabilidad las primeras cinco componentes principales, se decidió realizar el análisis clúster sobre los valores originales.

Por tanto, para el análisis clúster, se tomaron las medias de los 12 valores originales de cada ecotipo (3 años x 4 bloques) para cada uno de los descriptores utilizados. Para los 110 ecotipos evaluados en campo se calculó la matriz de similitud entre ecotipos utilizando el índice de similaridad de Gower, que realiza una estandarización de las variables, en el paquete estadístico MULTIV v3.76b. Empleando la matriz de similitud obtenida, se construyó el dendrograma de agrupación utilizando el método UPGMA (ver figura 61).

Después de estudiar detalladamente el dendrograma, y los valores de todos los descriptores cualitativos y cuantitativos recogidos de cada ecotipo, añadido al conocimiento adquirido en los tres años, se llegó a la conclusión de agrupar los 110 ecotipos en 18 grupos suficientemente homogéneos (tabla 47).

Las características más significativas de los descriptores de cada uno de los grupos, son las siguientes:

El grupo 1 se caracteriza por alto valores de SDSS y PMS, maduración tardía (DMAD), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL) y tallo medio macizo (TSEC).

El grupo 2 se caracteriza por bajo valor de SDSS, espiga más larga (ELON), espiga muy laxa (EDEN), espigado y maduración temprana (DESP; DMAD), alto rendimiento (RDTO), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL) y forma ligeramente inclinada del hombro de la gluma (GFHO).

El grupo 3 se caracteriza por bajo valor de PMS, espiga más corta (ELON), menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espigado y maduración muy temprana (DESP, DMAD), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), longitud del pico de la gluma menor (GLONP), forma ligeramente inclinada del hombro de la gluma (GFHO), y hábito de crecimiento semi-postrado (HCRE).

El grupo 4 se caracteriza por bajos valores de SDSS y PMS, espiga muy laxa (EDEN), espigado y maduración temprana (DESP; DMAD), longitud del pico de la gluma inferior (GLONP), vellosidad interna de la gluma débil-media (GIVELL), espigas pubescentes (GEVELL), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma

ligeramente inclinada del hombro de la gluma (GFHO) y hombro de la gluma estrecho (GANC).

El grupo 5 se caracteriza por bajos valores de SDSS y PMS, altura menor de la planta (PALT), espiga más larga (ELON), espiga muy laxa (EDEN), espigado y maduración temprana (DESP, DMAD), velloso interna de la gluma débil-media (GIVELL), espigas pubescentes (GEVELL), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma inclinada del hombro de la gluma (GFHO), hombro de la gluma estrecho (GANC), forma de la gluma más alargada (GFOR).

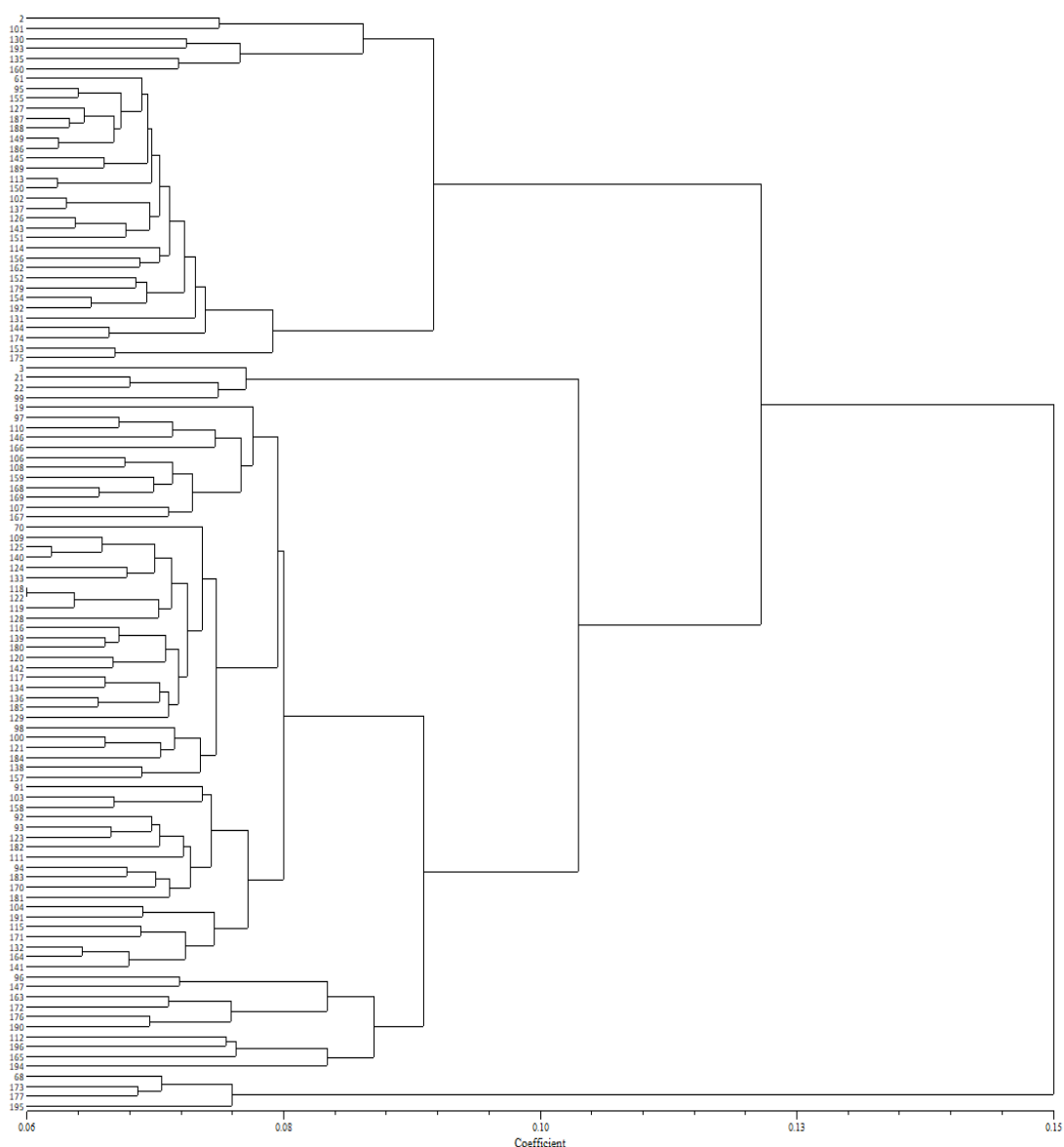


Figura 61. Dendrograma de 110 genotipos de trigo para descriptores cualitativos y cuantitativos, usando la distancia de Gower y el método aglomerativo UPGMA

El grupo 6 se caracteriza por bajos valores de PHL y PROT, altos valores de PMS, altura menor de la planta (PALT), espiga más corta (ELON), espiga menos laxa (EDEN), espigado y maduración tardía (DESP; DMAD), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma recta del hombro de la gluma (GFHO), hombro de la gluma más ancho (GANC), forma de la gluma más alargada (GFOR) y tallo medio macizo (TSEC).

El grupo 7 se caracteriza por bajos valores de PHL y PROT, altos valores de SDSS, menor altura de la planta (PALT), espiga más corta (ELON), espiga menos laxa (EDEN), espigado y maduración muy tardía (DESP; DMAD), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma recta del hombro de la gluma (GFHO), tallo medio macizo (TSEC) y hábito de crecimiento semi-postrado (HCRE).

El grupo 8 se caracteriza por bajos valores de PHL, PROT y PMS, altura menor de la planta (PALT), espiga menos laxa (EDEN), mayor número de espiguillas por espiga (EESPN), espigado y maduración tardía (DESP; DMAD), bajo rendimiento (RDTO), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma de la gluma más alargada (GFOR), forma recta del hombro de la gluma (GFHO), y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

El grupo 9 se caracteriza por bajos valores de PHL y PMS, altos valores de PROT, espiga más corta (ELON), menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espiga menos laxa (EDEN), espigado y maduración extra temprana (DESP; DMAD), bajo rendimiento (RDTO), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), encamado alto (ENC) y hábito de crecimiento semi-postrado (HCRE).

El grupo 10 se caracteriza por espiga más corta (ELON), menor número de espiguillas por espiga (EESPN), y color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), y encamado medio (ENC).

El grupo 11 se caracteriza por altos valores de PROT, SDSS y PMS, mayor altura de la planta (PALT), espiga más laxa (EDEN), longitud del pico de la gluma mayor (GLONP), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), y maduración tardía (DMAD).

El grupo 12 se caracteriza por altos valores de PROT, SDSS y PMS, mayor altura de la planta (PALT), menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espiga más laxa (EDEN), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), y maduración tardía (DMAD).

El grupo 13 se caracteriza por altos valores de PMS, menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espiga más laxa (EDEN), alto rendimiento (RDTO), color amarillo

de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), longitud del pico de la gluma mayor (GLONP), mayor longitud de las barbas (BLON), y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

El grupo 14 se caracteriza por bajos valores de PHL y SDSS, espigas más largas (ELON), mayor número de espiguillas por espiga (EESPN), espigado tardío (DESP), maduración muy tardía (DMAD), bajo rendimiento (RDTO), color marrón de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), pico de la gluma ligeramente curvado (GFORP), encamado medio (ENC), y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

El grupo 15 se caracteriza por altos valores de PROT, SDSS y PMS, menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espiga más laxa (EDEN), espigado y maduración tardía (DESP; DMAD), bajo rendimiento (RDTO), color marrón de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), mayor longitud de las barbas (BLON)

El grupo 16 se caracteriza por altos valores de PROT, SDSS y PMS, mayor altura de la planta (PALT), menor número de espiguillas por espiga (EESPN), espiga más laxa (EDEN), alto rendimiento (RDTO), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), longitud del pico de la gluma mayor (GLONP), mayor longitud de las barbas (BLON), pico de la gluma ligeramente curvado (GFORP), encamado medio (ENC) y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

El grupo 17 se caracteriza por altos valores de PHL y PMS, mayor altura de la planta (PALT), espiga más laxa (EDEN), alto rendimiento (RDTO), color amarillo de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), longitud del pico de la gluma mayor (GLONP), mayor longitud de las barbas (BLON), color rojo del pedúculo del tallo en la madurez (TCOL), encamado medio (ENC) y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

El grupo 18 se caracteriza por altos valores de PHL, PROT, SDSS y PMS, alto rendimiento (RDTO), color marrón de las glumas y barbas (GCOL; BCOL), forma ligeramente inclinada del hombro de la gluma (GFHO), color rojo del pedúculo del tallo en la madurez (TCOL), y hábito de crecimiento semi-erecto (HCRE).

Tabla 47. Agrupación de los 110 ecotipos de trigo gallegos en 18 grupos obtenidos por sus semejanzas agromorfológicas, medidas con 26 descriptores.

GRUPO	ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO	GRUPO	ECOTIPO
1	2	7	22	11	180
1	101	7	99	11	184
2	130	8	19	11	185
2	193	9	97	12	91
3	135	9	110	12	92
3	160	9	146	12	93
4	61	9	166	12	94
4	95	10	106	12	103
4	102	10	107	12	111
4	113	10	108	12	123
4	114	10	159	12	158
4	126	10	167	12	170
4	127	10	168	12	181
4	131	10	169	12	182
4	137	11	70	12	183
4	143	11	98	13	104
4	144	11	100	13	115
4	145	11	109	13	132
4	149	11	116	13	141
4	150	11	117	13	164
4	151	11	118	13	171
4	152	11	119	13	191
4	154	11	120	14	96
4	155	11	121	14	147
4	156	11	122	15	163
4	162	11	124	15	172
4	174	11	125	15	176
4	179	11	128	15	190
4	186	11	129	16	112
4	187	11	133	16	165
4	188	11	134	16	196
4	189	11	136	17	194
4	192	11	138	18	68
5	153	11	139	18	173
5	175	11	140	18	177
6	3	11	142	18	195
7	21	11	157		

3.5.2. Análisis ANOVA

Para evaluar estadísticamente la agrupación realizada en 18 grupos y poder estimar la hipótesis de que todos los grupos son iguales (H_0), se realizó un ANOVA unifactorial.

El resultado del análisis ANOVA, desglosado por descriptores de calidad de grano, descriptores cuantitativos y cualitativos, se muestra en las tablas 48, 49 y 50.

Tabla 48. Análisis ANOVA para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, de 110 accesiones de trigo gallego, para cuatro descriptores de calidad

Descriptor	Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	p valor	Tamaño del Efecto (η^2)
PHL	Inter-grupos	55,345	17	3,2556	10,87	< 0,001	0,668
	Intra-grupos	27,565	92	0,2996			
	Total	82,911	109				
PROT	Inter-grupos	16,072	17	0,9454	8,04	< 0,001	0,598
	Intra-grupos	10,815	92	0,1176			
	Total	26,888	109				
SDSS	Inter-grupos	1,264	17	0,0743	8,96	< 0,001	0,623
	Intra-grupos	0,764	92	0,0083			
	Total	2,027	109				
PMS	Inter-grupos	94,562	17	5,5625	35,44	< 0,001	0,868
	Intra-grupos	14,438	92	0,1569			
	Total	109,000	109				

GL: grados de libertad

Tabla 49. Análisis ANOVA para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, de 110 accesiones de trigo gallego, para ocho descriptores cuantitativos

Descriptor	Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	p valor	Tamaño del Efecto (η^2)
PALT	Inter-grupos	948,999	17	55,8235	3,79	< 0,001	0,412
	Intra-grupos	1356,116	92	14,7404			
	Total	2305,116	109				
ELON	Inter-grupos	0,115	17	0,0068	6,02	< 0,001	0,526
	Intra-grupos	0,103	92	0,0011			
	Total	0,218	109				
EESPN	Inter-grupos	0,112	17	0,0066	10,32	< 0,001	0,656
	Intra-grupos	0,059	92	0,0006			
	Total	0,171	109				
EDEN	Inter-grupos	0,092	17	0,0054	7,67	< 0,001	0,586
	Intra-grupos	0,065	92	0,0007			
	Total	0,157	109				
DESP	Inter-grupos	0,087	17	0,0051	12,46	< 0,001	0,697
	Intra-grupos	0,038	92	0,0004			
	Total	0,125	109				
DMAD	Inter-grupos	0,069	17	0,0040	17,84	< 0,001	0,767
	Intra-grupos	0,021	92	0,0002			
	Total	0,089	109				
ENC	Inter-grupos	12,100	17	0,7118	2,62	0,0017	0,326
	Intra-grupos	24,980	92	0,2715			
	Total	37,080	109				
RDTO	Inter-grupos	0,646	17	0,0380	4,68	< 0,001	0,464
	Intra-grupos	0,747	92	0,0081			
	Total	1,393	109				

GL: grados de libertad

Como muestran las tablas 48, 49 y 50, existe una diferencia muy significativa (***) entre los 18 grupos de accesiones formados, para 25 de los descriptores estudiados, y una diferencia significativa (**) para el encamado (ENC), con lo que se rechaza la hipótesis nula de igualdad de grupos. Se constata que las varianzas (media cuadrática) existentes entre grupos son mucho mayores, que las varianzas dentro de cada grupo, para todos los descriptores. El tamaño de efecto (η^2) del factor inter-grupos es alto ($> 0,250$) para todos los 26 descriptores analizados, que nos indica que los grupos son muy diferentes.

Tabla 50. Análisis ANOVA para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, de 110 accesiones de trigo gallego, para 14 descriptores cualitativos

Descriptor	Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	p valor	Tamaño del Efecto (η^2)
GANG	Inter-grupos	101,539	17	5,9729	73,65	< 0,001	0,932
	Intra-grupos	7,461	92	0,0811			
	Total	109,000	109				
GFHO	Inter-grupos	95,971	17	5,6454	39,86	< 0,001	0,880
	Intra-grupos	13,029	92	0,1416			
	Total	109,000	109				
GLONP	Inter-grupos	0,871	17	0,0512	31,72	< 0,001	0,854
	Intra-grupos	0,149	92	0,0016			
	Total	1,019	109				
GCOL	Inter-grupos	2,491	17	0,1465	56,25	< 0,001	0,912
	Intra-grupos	0,240	92	0,0026			
	Total	2,730	109				
GIVELL	Inter-grupos	0,266	17	0,0156	17,46	< 0,001	0,763
	Intra-grupos	0,082	92	0,0009			
	Total	0,348	109				
GEVELL	Inter-grupos	118,828	17	6,9899	11,85	< 0,001	0,686
	Intra-grupos	54,265	92	0,5898			
	Total	173,093	109				
GFOR	Inter-grupos	0,044	17	0,0026	5,81	< 0,001	0,518
	Intra-grupos	0,041	92	0,0005			
	Total	0,086	109				
BLON	Inter-grupos	0,309	17	0,0182	34,74	< 0,001	0,865
	Intra-grupos	0,048	92	0,0005			
	Total	0,357	109				
BCOL	Inter-grupos	10,910	17	0,6418	41,08	< 0,001	0,884
	Intra-grupos	1,437	92	0,0156			
	Total	12,347	109				
STAM	Inter-grupos	0,005	17	0,0003	5,14	< 0,001	0,487
	Intra-grupos	0,005	92	0,0001			
	Total	0,010	109				
GFORP	Inter-grupos	1,063	17	0,0625	7,24	< 0,001	0,572
	Intra-grupos	0,794	92	0,0086			
	Total	1,857	109				
TCOL	Inter-grupos	1,555	17	0,0915	12,54	< 0,001	0,698
	Intra-grupos	0,671	92	0,0073			
	Total	2,226	109				
TSEC	Inter-grupos	1,374	17	0,0808	114,81	< 0,001	0,955
	Intra-grupos	0,065	92	0,0007			
	Total	1,438	109				
HCRE	Inter-grupos	0,668	17	0,0393	22,89	< 0,001	0,809
	Intra-grupos	0,158	92	0,0017			
	Total	0,825	109				

El análisis *post hoc* de comparación múltiple entre los 18 grupos mediante el procedimiento DHS de Tukey, no se pudo hacer debido a que había grupos con un solo ecotipo.

3.5.3. Análisis AMOVA

Para estimar los componentes de variabilidad genética para la diferenciación en grupos y subgrupos, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA).

Tabla 51. Análisis AMOVA para tres loci *Glu-1*, entre 18 grupos de accesiones de trigo gallegos

	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índice de fijación (FST)	P-valor	
Entre grupos	540,856	0,165	40,83	FST	0,56	< 0,001
Entre ecotipos/grupos	194,223	0,062	15,27	FSC	0,26	< 0,001
Dentro de ecotipos	606,545	0,177	43,90	FCT	0,41	< 0,001
Total	1341,624	0,404				

Va: varianza entre grupos. Vb: varianza entre ecotipos del grupo. Vc: varianza intraecotipo.

El porcentaje de la variación total hallada, que corresponde a la diferenciación entre los 18 grupos, es de un 40,8%, lo que refleja que existe una estructuración de la población total de los ecotipos, siendo el índice de fijación entre grupos significativo ($F_{ST} = 0,56$; $p < 0,001$). La variación existente dentro de los ecotipos (43,9%) también es significativa ($F_{CT} = 0,41$; $p < 0,001$), y nos indica una heterogeneidad bastante elevada.

El porcentaje de variación existente entre ecotipos dentro de los grupos es bastante menor (15,27%), pero también es significativa la diferencia que existe entre ellos ($F_{SC} = 0,26$; $p < 0,001$).

Los resultados del análisis AMOVA de la tabla 51 representan el promedio de los tres loci polimórficos usados para calcular las distancias entre ecotipos (figura 62).

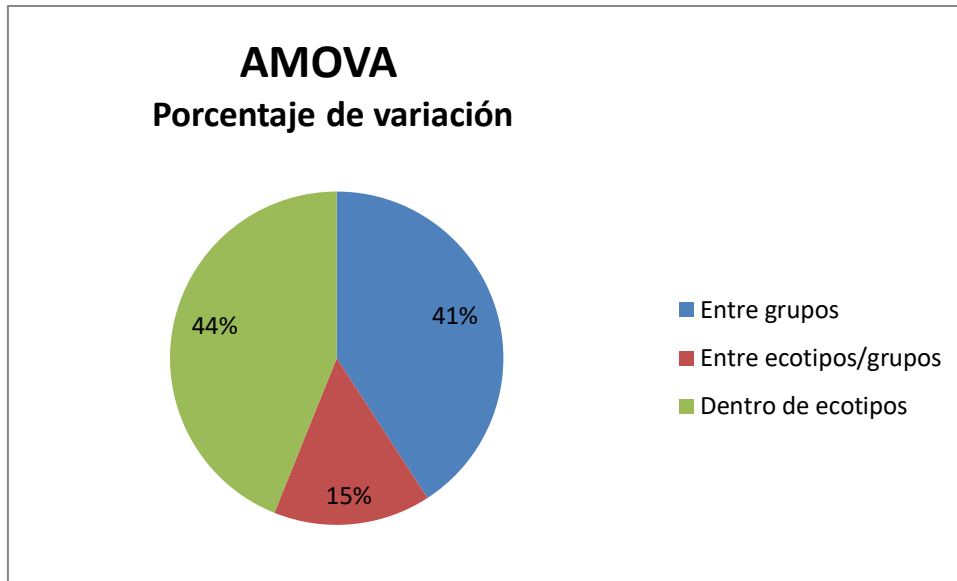


Figura 62. Porcentaje de variación entre 18 grupos para los tres loci del *Glu-1*

En la tabla 52 se muestra el AMOVA realizado para los 18 grupos, y desglosado por locus. Se observa que es el locus *Glu-A1* (0,119), y en menor medida el locus *Glu-B1* (0,040), los que contribuyen más a la variación existente entre los grupos. El locus *Glu-D1* prácticamente no contribuye a esa diferenciación.

Entre ecotipos dentro de los grupos existe menos varianza (V_b), estando además más repartida entre los tres loci.

Con respecto a la varianza existente dentro de los ecotipos (V_c), es bastante mayor que la que existe entre ecotipos, y es otra vez el locus *Glu-A1* el que contribuye más a la variabilidad.

La gran mayoría de la variación existente debido al locus *Glu-D1* (74%), se encuentra dentro de los ecotipos.

Tabla 52. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para los 18 grupos obtenidos en el dendrograma, desglosado por locus, en 110 accesiones de trigo gallego

ENTRE GRUPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Va	Porcentaje de variación
Glu-A1	378,00	17	0,119	52,33
Glu-B1	134,81	17	0,040	39,13
Glu-D1	28,05	17	0,006	8,33
ENTRE ECOTIPOS dentro de GRUPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Vb	Porcentaje de variación
Glu-A1	79,32	92	0,025	10,90
Glu-B1	71,51	92	0,024	23,37
Glu-D1	43,39	92	0,013	17,61
DENTRO DE ECOTIPOS				
Locus	Suma de cuadrados	GL	Vc	Porcentaje de variación
Glu-A1	286,31	3418	0,084	36,76
Glu-B1	129,46	3418	0,038	37,50
Glu-D1	190,78	3418	0,056	74,06

GL: grados de libertad. Va: varianza entre grupos. Vb: varianza entre ecotipos dentro de grupos. Vc: varianza dentro de ecotipos

3.5.4. Distribución espacial mediante el Test de Mantel

En este análisis se utilizaron cuatro matrices de datos: las matrices de distancias genéticas de Nei entre 199 ecotipos y entre los 110 ecotipos del ensayo de campo, la matriz de distancias geográficas (distancias euclídeas) entre los ecotipos, y la matriz de similitud basada en el índice de Gower para los descriptores agromorfológicos entre los 110 ecotipos.

El coeficiente de correlación r no fue significativo cuando se testaron las matrices de distancias genéticas (de 199 ecotipos y de 110 ecotipos), con la matriz de distancias geográficas (tabla 40), lo que significa, que no se encontró ninguna relación entre las frecuencias alélicas de los loci *Glu-1* de los ecotipos, con la distribución geográfica de los mismos.

Tabla 53. Test de Mantel entre diferentes tipos de matrices, y valores de r.

Matrices	r
Distancias genéticas entre 199 ecotipos vs. Distancias geográficas	0,16
Distancias genéticas entre 110 ecotipos vs. Distancias geográficas	0,13
Similaridad basada en índice de Gower vs. Distancias geográficas	-0,10*
Distancias genéticas entre 110 ecotipos vs. Similaridad basada en índice de Gower	-0,23*
Distancias genéticas entre 110 ecotipos vs. Similaridad basada en índice de Gower vs. Distancias geográficas	-0,22*

r = coeficiente de correlación de Mantel. * nivel de significación del 5%.

Con respecto a las frecuencias alélicas y a los caracteres agronómicos ($r = -0,23^*$), presentaron una leve correlación negativa significativa, que no se debe al componente de situación geográfica, puesto que en el análisis a tres vías el efecto de la situación geográfica permanece constante. Esto es debido, a que el valor de r es prácticamente igual tanto entre la matriz de distancia genética vs matriz Gower ($r = -0,23^*$), como para el análisis a tres vías entre la matriz de distancia genética vs matriz Gower vs matriz de distancia geográfica ($r = -0,22^*$). El signo negativo en la correlación es debido a que se comparan matrices de distancias con matrices de similitudes, no significando que la correlación sea inversamente proporcional.

Las distancias genéticas se correlacionaron negativamente ($r = -0,23^*$) con los datos agronómicos, indicando que, a mayor distancia genética, menor similitud agronómica (más diferentes). Cuanto más similares agronómicamente sean dos ecotipos, tanto menor es su distancia genética, indicando que las dos matrices dan estimaciones de las relaciones genéticas entre los ecotipos expresadas de manera diferente.

También los datos agronómicos y las distancias geográficas mostraron una correlación negativa baja pero significativa ($r = -0,10^*$), lo que indica que cuanto más próximos geográficamente (menor distancia geográfica) se encuentren dos ecotipos, tanto más similares son agronómicamente, probablemente debido a la adaptación de los ecotipos a las condiciones ambientales locales y a las prácticas agrícolas.

4. DISCUSIÓN DE CARACTERIZACION ECOTIPOS



4.1. CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLÓGICA CUANTITATIVA

4.1.1. Datos cuantitativos

El amplio rango de altura de plantas (128 a 156 cm) y longitud de espiga (9,2 a 11,4 cm) de las accesiones gallegas, es corroborado por similares estudios de poblaciones locales europeas (Sahuquillo y Fraga, 1991; Oliveira *et al.*, 2000; Dotlacil *et al.*, 2003). Sin embargo, los coeficientes de variación genotípicas de la colección gallega, 11,3% y 15,2%, de PALT y ELON, respectivamente, fueron superiores a los citados por Dotlacil *et al.* (2003), medidos en una colección de 222 ecotipos y cultivares obsoletos. Sin embargo, esta variabilidad no fue tan alta como la encontrada por Terasawa *et al.* (2009) en poblaciones afganas, con rangos entre 6,9 y 18,7 cm de longitud de espiga, y alturas entre menos de 100 cm y 179 cm. Esta mayor diversidad en trigos afganos es coherente con un área geográfica mucho mayor, y en un país cercano al origen de la domesticación del trigo.

Respecto a la densidad de la espiga (EDEN), existió también una gran variabilidad (15,15 a 19,66), pese a que normalmente las espigas de las variedades locales sean bastantes laxas (Oliveira *et al.*, 2000; Terasawa *et al.*, 2009). Esta laxitud de espiga, unido a la gran altura de la planta, son dos de las características que más definen a los ecotipos locales. En el descriptor de número de espiguillas por espiga (EESPN), la variación también fue grande (15,1 a 19,7).

La variabilidad observada permitió encontrar diferencias significativas en todos los descriptores cuantitativos.

Con respecto a la fenología, el gran rango de variación obtenido en el número de días entre la siembra y el espigado (94 a 113 días), y entre la siembra y la maduración (134 a 153 días), entre los 110 ecotipos testados en campo, supone una variación fenológica muy grande, por lo que no concuerda con lo citado por Sahuquillo y Fraga (1991), que postularon que todos los trigos gallegos tenían la misma fenología. Otros autores encontraron también una gran variabilidad fenológica entre distintos ecotipos gallegos, europeos, afganos y egipcios, respectivamente (Oliveira *et al.*, 2000; Dotlacil *et al.*, 2003; Terasawa *et al.*, 2009; Gharib *et al.*, 2020).

Con respecto al descriptor rendimiento, el coeficiente de variación genotípica fue de casi el 40%, debido a que está mucho más influido por las variaciones anuales.

4.1.2. Correlaciones entre descriptores cuantitativos

La fuerte correlación negativa entre ELON y EDEN ($r = -0,602^{***}$), confirma lo citado por Würschum *et al.* (2018), a mayor longitud de espiga, se pierde la compacidad de ésta. Aún así, a mayor ELON, mayor es el número de espiguillas por espiga (EESPN) ($r = 0,772^{***}$), determinado en la colección gallega.

Otra correlación positiva pero débil es la encontrada entre PALT y ELON ($r = 0,109^{***}$), que indica que las plantas más altas tienen más probabilidades de tener espigas más largas.

Con respecto a la variable rendimiento, se detectó una correlación positiva significativa pero débil entre PALT y RDTO ($r = 0,123^{***}$), que corrobora lo observado por otros autores (Mishra *et al.*, 2015), e incluso con correlaciones positivas bastante mayores (Law *et al.*, 1978; Gharib *et al.*, 2020).

La fuerte correlación positiva entre los descriptores fenológicos DESP y DMAD ($r = 0,982^{***}$) observada en los trigos gallegos, corrobora los datos de Dotlacil *et al.* (2003), ya que cuanto más tardío es el espigado, más tardía es la maduración del grano.

La correlación negativa moderada detectada entre DESP y RDTO ($r = -0,324^{***}$), corrobora lo observado por otros autores (Mishra *et al.*, 2015), y es similar a la encontrada para DMAD y RDTO ($r = -0,305^{***}$).

4.2. CARACTERIZACIÓN AGROMORFOLÓGICA CUALITATIVA

La pubescencia externa de las glumas (GEVELL) tan sólo la presentaron un 26,1% de los ecotipos, que es similar al 28,8% citado por Terasawa *et al.* (2009) en una colección de 410 accesiones afganas. Esta baja proporción de poblaciones con pubescencia también lo reflejan otros autores con *T. turgidum*, *T. dicoccum* y *T. durum* (Alvarez *et al.*, 2007; Ruiz *et al.*, 2012). Tsunewaki (1965) realizó un estudio sobre un amplio rango de especies de *Triticum*, y constató que sólo una media del 10% de las accesiones presentaba vello en las glumas, aunque mostró que algunas especies cultivadas como *T. durum*, *T. dicoccum* y *T. spelta*, tuvieron un promedio de espigas pubescentes superior (14 al 32%).

En la colección gallega sólo se encontraron espigas con barba, que coincide con otros autores (Sahuquillo y Fraga, 1991), pero que representa una clara distinción con otras colecciones españolas y foráneas, en las cuales las espigas sin barbas, o mochas, tienen

una amplia representación (Gadea, 1954; Sánchez-Monge, 1957; Terasawa *et al.*, 2009). También está superior proporción de variedades botánicas con barbas es descrita por Mitrofanova *et al.* (2012) sobre colecciones de trigos afganos.

Con respecto a la pubescencia interna de la gluma (GIVELL), a pesar de que el análisis *post hoc* de comparación múltiple no mostró diferencias significativas entre ninguna de las parejas de ecotipos testados, el grupo 4 y 5 surgidos del análisis clúster de los 110 ecotipos, muestran unos promedios ligeramente superiores en este descriptor, siendo todos de la var. *hostianum*.

El porcentaje de ecotipos con glumas y barbas blancas/amarillas fue muy superior al de ecotipos con glumas y barbas marrones, en la colección gallega. Otros autores indicaron también esta predominancia en poblaciones de trigos gallegos (Sahuquillo y Fraga (1991), o en poblaciones españolas (Gadea, 1954; Sánchez-Monge, 1957).

Con respecto al descriptor BLON, la existencia de un grupo de ecotipos con barbas significativamente más largas es importante, ya que las barbas al igual que las glumas tienen actividad fotosintética, y por tanto esta diferencia puede representar una mejora en el rendimiento. En este caso, este grupo de ecotipos con barbas largas coincide con tener uno de los rendimientos más altos de la colección.

En cuanto al descriptor TSEC, se detectaron tan sólo seis ecotipos con tallo medio macizo, lo que representa muy bajo porcentaje con respecto al total de la colección. Como el grosor de la médula del tallo es una de las variables que influyen en el encamado del trigo, es importante tener esta variabilidad en la colección, ya que existen autores que correlacionan este grosor con la resistencia al encamado (Kong *et al.*, 2013).

En los descriptores morfológicos GLONP y GFHO se encontró variabilidad, sobre todo en el último, que tuvo mayor capacidad de discriminar entre ecotipos diferentes. Sin embargo, sólo ayudan a diferenciar poblaciones de ecotipos, sin que tenga un efecto agronómico conocido.

Con respecto a los descriptores GANC y HCRE, aunque el análisis *post hoc* de comparación múltiple no encontrase diferencias significativas entre ninguna de las parejas de ecotipos testadas, a pesar de que el análisis Kruskal-Wallis indica que sí existieron diferencias, esta tesis sostiene que estas diferencias existen entre los ecotipos, aunque el exceso de variabilidad dentro de cada ecotipo puede haber ocultado las diferencias. Con respecto al hábito de crecimiento, se observaron evidentes diferencias en el ensayo de campo. Sin embargo, el momento de la toma de datos dentro del periodo vegetativo, y la

diferente fecha de siembra en cada año, puede haber enmascarado las diferencias visuales observadas.

En definitiva, algunos de los descriptores que detectaron variabilidad en la colección de trigos gallegos, no tuvieron un valor discriminante importante en este análisis univariante, pero sirvieron de apoyo en el análisis clúster posterior para poder crear grupos homogéneos de ecotipos.

4.3. VARIEDADES BOTÁNICAS

El hallazgo de cuatro variedades botánicas (var. *erythrospermum*, var. *ferrugineum*, var. *hostianum*, var. *barbarossa*) en las 110 accesiones gallegas testadas, coincide con lo publicado por Sahuquillo y Fraga (1991), en un estudio realizado en 121 muestras de trigo recogidas por toda Galicia. Esto representa una pequeña proporción de las 22 castas de trigo antiguas, presentes en el “Herbario” de la Ceres Hispánica de Lagasca y Clemente (Tellez-Molina y Alonso-Peña, 1952).

Aunque parezca pequeña esta representación de las 22 castas de Lagasca y Clemente, considerando la reducida área de la geografía gallega, se puede comparar con las cinco variedades botánicas encontradas en 46 accesiones de trigo blando de Andalucía (Ayala *et al.*, 2016), 10 variedades botánicas encontradas en 59 accesiones de trigo blando (Ruiz *et al.*, 2002), y siete variedades botánicas en 14 accesiones de trigo criollo mejicano (Caballero *et al.*, 2010).

Las diferencias significativas encontradas en 10 de los 13 descriptores cualitativos utilizados entre las cuatro variedades botánicas, en el estudio morfológico de los 110 ecotipos de trigo autóctono gallego, difiere de las conclusiones de Sahuquillo y Fraga (1991). Estas dos autoras, en su estudio botánico, aunque encontraron diferencias significativas entre las variedades botánicas en cinco descriptores cuantitativos (altura, diámetro del tallo, longitud y anchura de hojas, y número de espigas fértiles), posteriormente concluyeron que no se justificaba el establecimiento de taxones con rango inferior a la subespecie *vulgare* (hoy *aestivum*), a partir de los datos morfológicos (descriptores cualitativos), genéticos (isoenzimas) y agronómicos (rendimiento, encamado, y enfermedades foliares). Sin embargo, la gran mayoría de los descriptores cualitativos usados en la presente tesis, excepto los que definen a las variedades botánicas, difieren de los utilizados por Sahuquillo y Fraga.

Del análisis clúster realizado de las 110 accesiones evaluadas en campo, y el ANOVA posterior realizado entre los grupos formados, a pesar de que se no pudo hacer el análisis *post hoc* de comparación múltiple entre los 18 grupos formados, podemos extraer las siguientes conclusiones.

Los grupos 4 y 5, constan de 29 accesiones con glumas amarillas y pubescentes (var. *hostianum*), con una vellosidad interna superior a otros grupos, con espiga muy laxa, con un estrecho hombro de la gluma, una forma ligeramente inclinada del hombro de la gluma, y una longitud del pico de la gluma menor. Además, se caracteriza por tener un espigado y maduración muy temprana, así como unos valores de SDSS y PMS muy bajos. Todos estos atributos permiten hacer un grupo homogéneo y distinguible del resto.

El grupo 18, con cuatro ecotipos de glumas marrones y lampiñas (var. *ferrugineum*), presenta unos valores altos de PHL, PROT, SDSS y PMS, con alto rendimiento, hábito de crecimiento semi-erecto, longitud mayor de las barbas, maduración tardía y pedúnculo del tallo rojo en madurez. Sin embargo, en este grupo un ecotipo no cumple con las dos últimas características. También los grupos 14 y 15 presentan una mayoría de ecotipos de la var. *ferrugineum*, pero en este caso con algo de mezcla. En estos dos grupos el rendimiento es bastante menor, y la calidad de grano en el grupo 14 es bastante menor que la del grupo 15 y 18. Conciden en espigado y maduración tardía, pero el grupo 15 tiene un hábito de crecimiento menos erecto. Por tanto, parece que dentro de la var. *ferrugineum* existe mayor variabilidad fenotípica, que en la var. *hostianum*.

Lo mismo ocurre dentro de la var. *erythrospermum*, ya que el resto de los grupos formados son de esta variedad botánica, y entre ellos existe bastante mayor variación en muchos de los descriptores medidos.

Por tanto, estos datos se corroboran en parte con otros autores, ya que Ruiz *et al.* (2002) concluyeron que algunas variedades botánicas tienen una identidad genotípica, pero existen otras en las cuales hay mucha variabilidad, incluso mayor que entre varios agrotipos.

Por tanto, aunque estas variedades botánicas puedan ser utilizadas en un primer paso para diferenciar entre accesiones o grupos de accesiones, los marcadores moleculares como las gluteninas y gliadinas permiten detectar un mayor grado de variabilidad genética y por tanto mayor discriminación entre las diferentes accesiones guardadas en un Banco de Germoplasma, como se muestra en esta tesis, así como en otros estudios de trigo blando (Ruiz *et al.*, 2002).

Con respecto a la var. *barbarossa*, al detectarse en menos de un 1% de las espigas gallegas estudiadas, y estar diseminadas entre varios ecotipos, tan sólo cabe destacar su rareza, que coincide con la escasa presencia de esta variedad citada por otros autores (Gadea, 1954; Mitrofanova *et al.*, 2012).

4.4. CARACTERIZACIÓN DE CALIDAD DE GRANO

4.4.1. Datos de calidad de grano

Las medias anuales, para las tres campañas agrícolas, de los descriptores de calidad de grano fueron bastantes altas, observándose unos coeficientes de variación debido al genotipo, mucho mayores en SDSS (47,9%) y PMS (33,8%), que en PROT (12,2%) y PHL (3,7%), como se puede observar en otros trabajos (Rapp *et al.*, 2017; Aktas y Baloch, 2017).

La variabilidad anual debido al factor climático, superó ampliamente a la variabilidad debido al factor genotipo, sobre todo en PHL y PROT, que indica una menor heredabilidad de dichas variables. Esta baja heredabilidad de PHL y PROT, con respecto a SDSS, lo corroboran otros estudios (Rapp *et al.*, 2017).

En cuanto al descriptor SDSS, que más influye en la calidad harinera de los trigos, le afectó en menor grado la variabilidad anual, ya que existe mayor control genético sobre esta variable (Aguiriano *et al.*, 2009). Sin embargo, la menor calidad medida en valores SDSS, del primer año del ensayo, se atribuye a que no se aplicó ningún tratamiento con fungicidas para el control de las enfermedades foliares.

La calidad panadera de variedades tradicionales en la colección de trigo gallega, medida indirectamente con valores de SDSS, con rangos de 39 mm, 44 mm y 52 mm, para cada uno de los años del ensayo, evidencia una gran variabilidad, lo que ya se observó en otras colecciones españolas de ecotipos de trigo (Gómez *et al.*, 2009; Giraldo *et al.*, 2010).

El rango de variación encontrado en el porcentaje de proteína de los ecotipos gallegos fue también muy alto (12,7-15,1%), y similar a otras colecciones españolas de ecotipos con 11,7-17,2% (Giraldo *et al.*, 2010) y 15,8-17,7% (Gómez *et al.*, 2009). Los datos medios de PROT de la colección gallega (14,10%) concuerda con otros autores (Blum *et al.*, 1987) y supera a otros trabajos con variedades locales (Oliveira *et al.*, 2000), aunque son inferiores a otras colecciones de ecotipos y cultivares obsoletos de Europa

(Gómez *et al.*, 2009; Dotlacil *et al.*, 2010), con 16,2 y 15,3%, respectivamente. Sin embargo, los valores medios de PMS en los trigos gallegos (50,2 g) fueron bastante superiores a los citados por Dotlacil (39,6-44,4 g), lo que indica un mejor llenado del grano de trigo en los ecotipos gallegos, que suele producir un ligero descenso del porcentaje de proteína al aumentar el porcentaje almidón/proteína. El promedio del porcentaje de proteína de este estudio, coincide también con Dotlacil *et al.*, (2003), que mostró que el porcentaje de proteína de los ecotipos tradicionales y cultivares obsoletos, superaban en 2 o 3 puntos a los cultivares modernos. Gómez *et al.* (2009) mostraron, que aunque los ecotipos antiguos tienen mayor porcentaje de proteína en el grano, su peso específico es menor que variedades seleccionadas tras la revolución verde.

El valor medio de PMS de las accesiones gallegas (50,15 g) ha sido similar a otras colecciones de poblaciones locales europeas (Dotlacil *et al.*, 2003), pero en la colección gallega existió un rango de variación bastante mayor (37,5-57,2 g). Muchas de las variedades modernas suelen tener menor peso de grano que los antiguos ecotipos, en parte por el efecto del alelo enanizante *Rht-D1b*, tan frecuentemente empleado (Würschum *et al.*, 2018).

4.4.2. Correlaciones de calidad de grano

La moderada correlación positiva entre PROT y SDSS en este estudio, confirma a otros autores (Campbell *et al.*, 1987; Graybosch *et al.*, 1996; Clarke *et al.*, 2010, Rapp *et al.*, 2017), sin embargo, otros autores encontraron correlaciones negativas (Rharrabti *et al.*, 2003; Giraldo *et al.*, 2010) o no significativas (Martínez *et al.*, 2005). El contenido de proteína es un estimador indirecto de la cantidad de gluten, pero no de su calidad, que está más relacionada con el valor SDSS, a pesar de ello se han encontrado correlaciones significativas altas del contenido proteico con respecto a la fuerza del gluten (de Santis *et al.*, 2020).

La moderada correlación positiva entre PHL y PROT ($r = 0,316^{***}$) detectada en los trigos gallegos, fue también detectada por Gómez *et al.* (2009) en ecotipos españoles ($r = 0,26^*$). Sin embargo, esa correlación significativa no fue observada por Rapp *et al.* (2017).

La correlación entre los valores de PHL y SDSS, aunque débil, fue significativamente negativa, lo que contradice la correlación positiva citada por Rapp *et al.* (2017).

El contenido proteico del endospermo suele estar inversamente relacionado con el rendimiento en grano, teniendo una baja heredabilidad, como se muestra en un estudio con ecotipos de trigo españoles y variedades modernas (Gómez *et al.*, 2009), con correlaciones negativas ($r = -0,64^{***}$). En la presente tesis, la correlación calculada entre PROT y RDTO ($r = -0,138^{***}$) también fue negativa, aunque con un tamaño del efecto muy bajo. Sin embargo, en el estudio de Aguiriano *et al.* (2009), no encontraron correlación entre PROT y RDTO, entre 50 variedades tradicionales de trigos duros adaptadas a condiciones de bajo input de nitrógeno.

La correlación entre PHL y RDTO en la colección gallega fue significativa, pero con un efecto despreciable ($r = -0,08^*$), mientras que otro autor (Gómez *et al.*, 2009) obtuvo una correlación significativa alta ($r = 0,58^*$).

La correlación positiva entre PMS y RDTO en la colección gallega fue significativa ($r = 0,124^{***}$), que concuerda con otros autores que citaron correlaciones aún más fuertes (Yao *et al.*, 2019; Gharib *et al.*, 2020).

También se detectaron las correlaciones positivas débiles entre PMS y SDSS ($r = 0,136^{***}$), y PMS y PHL ($r = 0,136^{***}$), que son los parámetros que más influyen en el rendimiento harinero.

4.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

4.5.1. Clúster y dendrograma

Con la agrupación realizada de las 110 accesiones testadas en campo, realizada a partir del procedimiento clúster, se conoce mejor la estructura de las poblaciones gallegas de trigo, asignando a los 18 grupos creados un perfil definido.

La clasificación de este material genético en grupos de valor agronómico similar, permite su mejor aprovechamiento en ensayos agronómicos futuros para testar características destacables de los ecotipos, y su uso en programas de mejora utilizando material vegetal autóctono. Esta evaluación de la variación genética existente en poblaciones autóctonas es esencial para el trabajo de los mejoradores (Van Hintum *et al.*,

2000), y constituye la herramienta esencial para revertir la pérdida de variabilidad en cultivares modernos con la introgresión de germoplasma nuevo (Reif *et al.*, 2005).

Además, este trabajo constituye un primer paso para la creación de una futura colección núcleo de trigos gallegos, conservando la máxima variabilidad en el menor número de accesiones.

Los resultados del análisis ANOVA realizado entre los 18 grupos creados, validan la buena agrupación obtenida ya que la mayor parte de la variabilidad existente, asociado a cada uno de los descriptores, es explicada por la diferencia entre grupos.

Con el AMOVA realizado también se constató que una gran parte de la variación genética total hallada, promedio de los loci *Glu-1*, corresponde a las diferencias entre los 18 grupos creados. Además, la mayor parte de la variación entre grupos se debe a las variaciones alélicas del locus *Glu-A1*, al igual que ocurría en la agrupación realizada de los ecotipos con las distancias genéticas.

4.5.2. Test de Mantel

La falta de correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas es consistente con resultados obtenidos por otros autores realizados en poblaciones de trigo emmer (Nevo y Beiles, 1989; Fahima *et al.*, 1999; 2002; Dong *et al.*, 2009) o en trigo hexaploide (Tahir *et al.*, 1996), por lo que las distancias genéticas no tuvieron relación con la proximidad o lejanía geográfica entre los ecotipos. No se puede decir que los ecotipos más cercanos geográficamente tiendan a ser genéticamente más similares que lo que se esperaría por el azar. Esto probablemente se deba a la poca distancia geográfica entre los ecotipos estudiados (todos los ecotipos procedentes de una región Galicia), y a la adaptación a las condiciones ambientales locales.

Los resultados obtenidos en el test de Mantel, indicando que, a mayor distancia genética, menor similaridad agronómica (más diferentes), son similares a los obtenidos por Ruiz *et al.* (2012), en una población de 190 accesiones de *T. turgidum* L., y en diferentes cultivos por otros autores (Beyene *et al.*, 2005; Prysiazhniuk *et al.*, 2019; Al-Ashkar *et al.*, 2020; Leontaritou *et al.*, 2020). Sin embargo, existen otros autores que no encontraron ninguna correlación entre las matrices de datos morfológicos y las matrices de datos genéticos en trigos (Marić *et al.*, 2004; Teklu *et al.*, 2005) y en cebadas silvestres (Vanhala *et al.*, 2004). En un metaanálisis realizado con 72 ensayos correlacionando diversidad genética mediante marcadores moleculares y mediante datos fenotípicos (Reed

y Frankham, 2001), concluyeron que la correlación media entre medidas moleculares y descriptores cuantitativos morfológicos fue débil ($r = 0,217$).





5. CONCLUSIONES



- 1.- El estudio agromorfológico y de calidad de grano, ha permitido conocer la gran variación existente en los 110 ecotipos gallegos en la mayoría de los descriptores utilizados, y la correlación que existe entre algunos de ellos.
- 2.- El análisis multivariante realizado con 26 descriptores cuantitativos, cualitativos y de calidad de grano, ha permitido obtener una agrupación de las accesiones en 18 grupos homogéneos.
- 3.- El análisis ANOVA posterior mostró que entre los grupos creados existen diferencias significativas para cada uno de los 26 descriptores utilizados, y el tamaño del efecto entre ellos es grande para todos los descriptores.
- 4.- El análisis AMOVA realizado, refleja que el 40,8% de la variación genética total hallada, promedio de los loci *Glu-1*, corresponde a las diferencias entre los 18 grupos creados. Además, la mayor parte de la variación entre grupos se debe a las variaciones alélicas del locus *Glu-A1*.
- 5.- El Test de Mantel mostró la falta de correlación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas, por lo que las distancias genéticas no tuvieron relación con la proximidad o lejanía geográfica entre los ecotipos. También reflejó que existe una leve correlación entre datos agronómicos y distancias genéticas, indicando que, a mayor distancia genética, más diferentes agronómicamente son las accesiones.
- 6.- La agrupación realizada permite conocer mejor la colección de trigos, de cara a futuros ensayos agronómicos, a la vez que permite detectar duplicidades dentro de la colección, que se eliminarán posteriormente, una vez se confirme con el estudio de gliadinas.
- 7.- Este estudio nos permitirá hacer selecciones futuras de las mejores líneas para utilizarlas en programas de mejora genética.
- 8.- La caracterización de la colección gallega, permite la posibilidad de duplicar parte de la colección en el Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos del I.N.I.A (CRF) y, por tanto, asegurar su viabilidad futura, y utilización para nuevas investigaciones.





6. BIBLIOGRAFÍA



- Aira, M^a J., Ramil, P., y Alvarez, A. (1990). Estudio paleocarpológico realizado en el Castro de Penalba (Campolameiro, Pontevedra. España). *Botánica Complutensis* XVI, 81-90.
- Aktaş, H., y Baloch, F. S. (2017). Allelic variations of glutenin subunits and their association with quality traits in bread wheat genotypes. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 41(2), 127–134. <https://doi.org/10.3906/tar-1701-22>
- Al-Ashkar, I., Alderfasi, A., Ben Romdhane, W., Seleiman, M. F., El-Said, R. A., y Al-Doss, A. (2020). Morphological and Genetic Diversity within Salt Tolerance Detection in Eighteen Wheat Genotypes. *Plants*, 9. <https://doi.org/10.3390/plants9030287>
- Alvarez, J. B., Caballero, L., Ureña, P., Vacas, M., y Martín, L. M. (2007). Characterisation and variation of morphological traits and storage proteins in Spanish emmer wheat germplasm (*Triticum dicoccon*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(2), 241–248. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-3807-y>
- An, X., Li, Q., Yan, Y., Xiao, Y., Hsam, S. L. K., y Zeller, F. J. (2005). Genetic diversity of European spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. em. Thell.) revealed by glutenin subunit variations at the Glu-1 and Glu-3 loci. *Euphytica*, 146(3), 193–201. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-9002-6>
- Anderson, O. D., y Greene, F. C. (1989). The characterization and comparative analysis of high-molecular-weight glutenin genes from genomes A and B of a hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 77(5), 689–700. <https://doi.org/10.1007/BF00261246>
- Alcántara, M. R. (2007). Breve revisión de los marcadores moleculares. En L.E. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre (Coords.), *Ecología molecular* (pp. 541-566). México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología.
- Ayala, M., Guzmán, C., Peña, R. J., y Alvarez, J. B. (2016). Diversity of phenotypic (plant and grain morphological) and genotypic (glutenin alleles in Glu-1 and Glu-3 loci) traits of wheat landraces (*Triticum aestivum*) from Andalusia (Southern Spain). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63(3), 465–475. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0264-0>
- Bakhella, M., y Branlard, G. (1997). High molecular weight glutenin subunits composition of Moroccan durum and common wheat varieties. *Sciences Des Aliments*, 17(5), 487–496.
- Bálint, A. F., Kovács, G., y Sutka, J. (2000). Origin and taxonomy of wheat in the light of recent research. *Acta Agronomica Hungarica*, 48(3), 301–313. <https://doi.org/10.1556/AAgr.48.2000.3.11>
- Belderok, B., Mesdag, J., y Donner, D.A. (2000). Spain. En: D.A. Donner (Ed.). *Bread-making quality of wheat* (pp. 247-264). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0950-7_18

- Bellil, I., Hamdi, O., y Khelifi, D. (2014). Allelic variation in *Glu-1* and *Glu-3* loci of bread wheat (*Triticum aestivum* ssp. *aestivum* L. em. Thell.) germplasm cultivated in Algeria. *Cereal Research Communications*, 42(4), 648–657. <https://doi.org/10.1556/CRC.2014.0004>
- Beyene Y., Botha AM., y Myburg A.A. (2005). Genetic diversity in traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by AFLP markers and morphological traits. En: D.L. Hawksworth, y A.T. Bull (Eds.). *Human Exploitation and Biodiversity Conservation. Topics in Biodiversity and Conservation*, vol.3 (pp. 315-331). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5283-5_17
- Branlard, G., y Dardevet, M. (1985). Diversity of grain protein and bread wheat quality: II. Correlation between high molecular weight subunits of glutenin and flour quality characteristics. *Journal of Cereal Science*, 3(4), 345–354. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(85\)80007-2](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(85)80007-2)
- Branlard, G., Pierre, J., y Rousset, M. (1992). Selection indices for quality evaluation in wheat breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 84(1–2), 57–64. <https://doi.org/10.1007/BF00223981>
- Branlard, G., Dardevet, M., Saccomano, R., Lagoutte, F., y Gourdon, J. (2001). Genetic diversity of wheat storage proteins and bread wheat quality. *Euphytica*, 119(1–2), 59–67. <https://doi.org/10.1023/A:1017586220359>
- Brites, C., Bagulho, A.S., Rodríguez-Quijano, M., y Carrillo, J.M. (2000). Effects of HMW glutenin subunits on some quality parameters of portuguese landraces of *Triticum aestivum* ssp. *vulgare*. En: P.R. Shewry y A.S. Tathan (Eds.). *Wheat Gluten*. (pp. 55-60). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781847552372-00055>
- Butow, B. J., Gale, K. R., Ikea, J., Juhász, A., Bedő, Z., Tamás, L., y Gianibelli, M. C. (2004). Dissemination of the highly expressed Bx7 glutenin subunit (Glu-B1a1 allele) in wheat as revealed by novel PCR markers and RP-HPLC. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(7), 1525–1535. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1776-8>
- Butow, B. J., Ma, W., Gale, K. R., Cornish, G. B., Rampling, L., Larroque, O., ... Békés, F. (2003). Molecular discrimination of Bx7 alleles demonstrates that a highly expressed high-molecular-weight glutenin allele has a major impact on wheat flour dough strength. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(8), 1524–1532. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1396-8>
- Fang, J., Liu, Y., Luo, J., Wang, Y., Shewry, P. R., y He, G. (2009). Allelic variation and genetic diversity of high molecular weight glutenin subunit in Chinese endemic wheats (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica*, 166(2), 177–182. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9812-4>
- Caballero, L., Martin, L. M., y Alvarez, J. B. (2001). Allelic variation of the HMW glutenin subunits in spanish accessions of spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. em. Thell.). *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 124–128. <https://doi.org/10.1007/s001220100565>

- Caballero, L., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2004). Intra- and interpopulation diversity for HMW glutenin subunits in Spanish spelt wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 175-181. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000020859.62504.e7>
- Caballero, L., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2004). Genetic variability of the low-molecular-weight glutenin subunits in spelt wheat (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L. em Thell.). *Theoretical and Applied Genetics*, 108(5), 914-919. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1501-z>
- Caballero, L., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2005). Collection and characterisation of populations of spelt and emmer in Asturias (Spain). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 41(Special Issue), 175-178. <https://doi.org/10.17221/6162-cjgpb>
- Caballero, L., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2007). Agrobiodiversity of hulled wheats in Asturias (North of Spain). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(2), 267-277. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-4049-8>
- Caballero, L., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2008). Relationships between the HMW- and LMW-glutenin subunits and SDS-sedimentation volume in Spanish hulled wheat lines. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 44(3), 114-117. <https://doi.org/10.17221/8/2008-CJGPB>
- Caballero, L., Peña, R. J., Martín, L. M., y Álvarez, J. B. (2010). Characterization of Mexican Creole wheat landraces in relation to morphological characteristics and HMW glutenin subunit composition. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57, 657-665. <https://doi.org/10.1007/s10722-009-9501-8>
- Campbell, W.P., Wrigley, C.W., Cressey, P.J., y Slack, C.R. (1987). Statistical correlations between quality attributes and grain-protein composition for 71 hexaploid wheats. *Cereal Chemistry*, 64, 293-299.
- Carrillo, J.M., Rodríguez-Quijano, M., Galiano, A., Hamie, B., Vazquez, J.F., y Orellana, J. (1988). Composicion en gluteninas de alto peso molecular de variedades de trigo blando registradas en España y su relación con la calidad panadera. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 19(1-2), 239-250.
- Chacón, E. A., Vázquez, F. J., Giraldo, P., Carrillo, J. M., Benavente, E., y Rodríguez-Quijano, M. (2020). Allelic variation for prolamins in Spanish durum wheat landraces and its relationship with quality traits. *Agronomy*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/agronomy10010136>
- Chapman, C.G.D. (1985). *The genetic resources of wheat: a survey and strategies for collecting*. Roma: International Board for Plant Genetic Resources.
- CIMMYT. (2021). Seeds of Discovery (SeeD). Recuperado de <https://www.cimmyt.org/projects/seeds-of-discovery-seed/>
- Clarke, F. R., Clarke, J. M., Ames, N. A., Knox, R. E., y Ross, R. J. (2010). Gluten index compared with SDS-sedimentation volume for early generation selection for gluten

- strength in durum wheat. *Canadian Journal of Plant Science*, 90(1), 1–11. <https://doi.org/10.4141/CJPS09035>
- Collada, C., y Jiménez, P. (2000). Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales*, 9(2), 237–248.
- Cornish, G.B., Békés, F., Allen, H.M., y Martin, D.J. (2001). Flour proteins linked to quality traits in an Australian doubled haploid wheat population. *Australian Journal of Agricultural Research*, 52, 1339–1348.
- Cornish, G.B., Békés, F., Eagles, H.A., y Payne, P.I. (2006). Prediction of dough properties for bread wheats. En: C.W. Wrigley, F. Békés, y W. Bushuk (Eds.). *Gliadin and glutenin: The unique balance of wheat quality* (pp. 243–280). St. Paul, Minnesota: AACC International.
- Dai, S., Xu, D., Yan, Y., Wen, Z., Zhang, J., Chen, H., ... Yan, Z. (2020). Characterization of high- and low-molecular-weight glutenin subunits from Chinese Xinjiang wheat landraces and historical varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3823–3835. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04414-5>
- Dalrymple, D.G. (1986). *Development and spread of high-yielding wheat varieties in developing countries* (7th ed). Washington, D.C.: U.S. Agency for International Development.
- De Bustos, A., Rubio, P., y Jouve, N. (2000). Molecular characterisation of the inactive allele of the gene Glu-A1 and the development of a set of AS-PCR markers for HMW glutenins of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(7), 1085–1094. <https://doi.org/10.1007/s001220051390>
- Dick, J.W., y Quick, J.S. (1983). A modified screening test for rapid estimation of gluten strength in early-generation durum wheat breeding lines. *Cereal Chemistry*, 60(4), 315–318.
- Directiva 71/347/CEE, de 12 de octubre de 1971, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre la medición de la masa hectolítrica de cereales, DO L 239 de 25/10/1971.
- Dong, P., Wei, Y. M., Chen, G. Y., Li, W., Nevo, E., y Zheng, Y. L. (2009). Resistance gene analog polymorphisms (RGAPs) in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) and their ecological associations. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(1), 121–136. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9351-9>
- dos Santos, T. M. M., Nóbrega, H., Ganança, J. F. T., Silva, E., Afonso, D., Gutiérrez, A. F. M., ... de Carvalho, M. Â. A. P. (2012). Genetic variability of high molecular weight glutenin subunits in bread wheat from continental Portugal, Madeira and Canary Islands. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(7), 1377–1388. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9764-8>

- Dotlačil, L., Hermuth, J., y Stehno, Z. (2003). Earliness, spike productivity and protein content in European winter wheat landraces and obsolete cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 49(2), 67–74. <https://doi.org/10.17221/4092-pse>
- Dotlačil, L., Hermuth, J., Stehno, Z., Dvořáček, V., Bradová, J., y Leišová, L. (2010). How can wheat landraces contribute to present breeding? *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(spec.issue). <https://doi.org/10.17221/1519-cjgpb>
- D'Ovidio, R., Porceddu, E., y Lafiandra, D. (1994). PCR analysis of genes encoding allelic variants of high-molecular-weight glutenin subunits at the Glu-D1 locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 88(2), 175–180. <https://doi.org/10.1007/BF00225894>
- Duarte, J.M., Santos, J.B., y Melo, L.C. (1999). Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. *Genetics and Molecular Biology*, 22(3), 427–432. <http://doi.org/10.1590/S1415-47571999000300024>
- Dvorak, J., Luo, M. C., Yang, Z. L., y Zhang, H. B. (1998). The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(4), 657–670. <https://doi.org/10.1007/s001220050942>
- Eagles, H.A., Cane, K., Eastwood, R.F., Hollamby, G.J., Kuchel, H., Martin, P.J., y Cornish, G.B. (2006). Contributions of glutenin and puroindoline genes to grain quality traits in southern Australian wheat breeding programs. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57, 179–186.
- Excoffier, L., Smouse, P. E., y Quattro, J. M. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131(2), 479–491.
- Excoffier, L., Laval, G., y Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47–50. Recuperado de <http://www-gene.cimr.cam.ac.uk/>
- Espí, A., Giraldo, P., Rodríguez-Quijano, M., y Carrillo, J. M. (2012). A PCR-based method for discriminating between high molecular weight glutenin subunits Bx7 and Bx7* in *Triticum aestivum* L. *Plant Breeding*, 131(5), 571–573. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01961.x>
- Fahima, T., Sun, G. L., Beharav, A., Krugman, T., Beiles, A., y Nevo, E. (1999). RAPD polymorphism of wild emmer wheat populations, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(3), 434–447. <https://doi.org/10.1007/s001220051089>
- Fahima, T., Röder, M. S., Wendehake, K., Kirzhner, V. M., y Nevo, E. (2002). Microsatellite polymorphism in natural populations of wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*, in Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(1), 17–29. <https://doi.org/10.1007/s001220200002>

- Feldman, M. (2001). Origin of Cultivated Wheat. En: A. P. Bonjean y W. J. Angus, (Eds.), *The world wheat book: a history of wheat breeding* (pp. 3-56). Paris: Lavoisier publishing.
- Fernández, L. (1988). *A Granxa Agrícola Experimental da Coruña, 1888-1928. Contribución ao estudio da renovación técnica da agricultura galega*. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia. Consellería da Presidencia e Administración Pública, Servicio Central de Publicacións.
- Filip, E. (2018). Composition of High Molecular Weight Glutenin Subunits in Polish Common Wheat Cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2473420>
- Gadea, M. (1949). Los trigos españoles. *Agricultura, Revista agropecuaria*, 205, 197-203.
- Gadea, M. (1954). *Trigos Españoles*. Madrid: Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.
- Gaines, C.S. (1991). Associations among quality attributes of red and white soft wheat cultivars across locations and crop years. *Cereal Chemistry*, 68, 56–59.
- Galili, G., y Feldman, M. (1984). A deficiency of the rapidly migrating high molecular weight glutenin subunit D5 in common wheat. *Cereal Research Communications*, 12 (3-4), 259-261.
- Gharib, M.A.A.H., Qabil, N., Salem, A.H., Ali, M.M.A., Awaad, H.A., y Mansour, E. (2021). Characterization of wheat landraces and commercial cultivars based on morpho-phenological and agronomic traits. *Cereal Research Communications*, 49, 149–159. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00077-2>
- Gao, Z., Tian, G., Wang, Y., Li, Y., Cao, Q., Han, M., y Shi, Z. (2018). Allelic variation of high molecular weight glutenin subunits of bread wheat in Hebei province of China. *Journal of Genetics*, 97(4), 905–910. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-0985-x>
- Gianibelli, M. C., Larroque, O. R., MacRitchie, F., y Wrigley, C. W. (2001). Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat glutenin and its component subunits. *Cereal Chemistry*, 78(6), 635–646. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2001.78.6.635>
- Giraldo, P., Rodríguez-Quijano, M., Simon, C., Vazquez, J. F., y Carrillo, J. M. (2010). Allelic variation in HMW glutenins in Spanish wheat landraces and their relationship with bread quality. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(4), 1012–1023. <https://doi.org/10.5424/sjar/2010084-1394>
- Gobaa, S., Kleijer, G., y Stamp, P. (2007). 2nd, a new high molecular weight glutenin subunit coded by Glu-A1: Its predicted structure and its impact on bread-making quality. *Plant Breeding*, 126(1), 1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01313.x>

- Goel, S., Yadav, M., Singh, K., Jaat, R. S., y Singh, N. K. (2018). Exploring diverse wheat germplasm for novel alleles in HMW-GS for bread quality improvement. *Journal of Food Science and Technology*, 55(8), 3257–3262. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3259-y>
- Gómez, M., Aparicio, N., Ruiz-París, E., Oliete, B., y Caballero, P. A. (2009). Evolution of bread-making quality of Spanish bread-wheat genotypes. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7(3), 585. <https://doi.org/10.5424/sjar/2009073-443>
- Goudet, J. (2003). Fstat (ver. 2.9.4), a program to estimate and test population genetics parameters. Recuperado de <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>
- Gower, J.C. (1971). A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics* 27, 857-874.
- Graybosch, R. A., Peterson, C. J., Shelton, D. R., y Baenziger, P. S. (1996). Genotypic and environmental modification of wheat flour protein composition in relation to end-use quality. *Crop Science*, 36(2), 296–300. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600020014x>
- Gregová, E., Hermuth, J., Kraic, J., y Dotlačil, L. (2004). Protein heterogeneity in European wheat landraces and obsolete cultivars: Additional information. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(6), 569–575. <https://doi.org/10.1023/B:GRES.0000024749.04012.ae>
- Gregová, E., Hermuth, J., Kraic, J., y Dotlačil, L. (2006). Protein Heterogeneity in European Wheat Landraces and Obsolete Cultivars: Additional Information II. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(5), 867–871. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-0010-8>
- Guo, H., Wu, J., Lu, Y., y Yan, Y. (2019). High-Molecular-Weight Glutenin 1Bx17 and 1By18 Subunits Encoded by Glu-B1i Enhance Rheological Properties and Breadmaking Quality of Wheat Dough. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1958747>
- Halford, N. G., Field, J. M., Blair, H., Urwin, P., Moore, K., Robert, L., ... Shewry, P. R. (1992). Analysis of HMW glutenin subunits encoded by chromosome 1A of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) indicates quantitative effects on grain quality. *Theoretical and Applied Genetics*, 83(3), 373–378. <https://doi.org/10.1007/BF00224285>
- Hammer, K., Knüpffer, H., Xhuveli, L., y Perrino, P. (1996). Estimating genetic erosion in landraces – Two case studies. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43, 329–336. <https://doi.org/10.1007/BF00132952>
- Hardy, O. J., y Vekemans, X. (2002). SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, 2(4), 618–620. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00305.x>

- Harlan, J.R. (1975). Our vanishing genetic resources. *Science*, 188(4188), 618–621. doi: 10.1126/science.188.4188.617
- Hawkes, J.G. (1983). *The diversity of crop plants*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Henkrar, F., El-Haddoury, J., Iraqi, D., Bendaou, N., y Udupa, S. M. (2017). Allelic variation at high-molecular weight and low-molecular weight glutenin subunit genes in Moroccan bread wheat and durum wheat cultivars. *3 Biotech*, 7(5). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0908-1>
- IBPGR (1985). *Descriptors for Wheat (Revised)*. Rome, Italy: International Board Plant Genetic Resources.
- Igrejas, G., Guedes-Pinto, H., Carnide, V., y Branlard, G. (1999). The high and low molecular weight glutenin subunits and ω -gliadin composition of bread and durum wheats commonly grown in Portugal. *Plant Breeding*, 118(4), 297–302. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00378.x>
- Igrejas, G., Branlard, G., Carnide, V., Gateau, I., y Guedes-Pinto, H. (1997). Storage protein diversity within the old Portuguese bread wheat Barbela population. *Journal of Genetics and Breeding*, 51(2), 167–173.
- Igrejas, G., Guedes-Pinto, H., Carnide, V., Clement, J., y Branlard, G. (2002). Genetical, biochemical and technological parameters associated with biscuit quality. II. Prediction using storage proteins and quality characteristics in a soft wheat population. *Journal of Cereal Science*, 36(2), 187–197. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0452>
- Jin, H., Yan, J., Peña, R. J., Xia, X. C., Morgounov, A., Han, L. M., ... He, Z. H. (2011). Molecular detection of high- and low-molecular-weight glutenin subunit genes in common wheat cultivars from 20 countries using allele-specific markers. *Crop and Pasture Science*, 62(9), 746–754. <https://doi.org/10.1071/CP11134>
- Kishii, M. (2019). An update of recent use of *Aegilops* species in wheat breeding. *Frontiers in Plant Science*, 10 (585), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00585>
- Khalid, A., y Hameed, A. (2019). Characterization of Pakistani wheat germplasm for high and low molecular weight glutenin subunits using SDS-PAGE. *Cereal Research Communications*, 47(2), 345–355. <https://doi.org/10.1556/0806.47.2019.13>
- Koehler, P., y Wieser, H. (2013). Chemistry of cereal grains. En: M. Gobbetti, M. Gänzle (Eds). *Handbook on Sourdough Biotechnology* (pp. 11–45). Boston, Massachusetts: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5425-0_2
- Kong, E., Liu, D., Guo, X., Yang, W., Sun, J., Li, X., ... Zhang, A. (2013). Anatomical and chemical characteristics associated with lodging resistance in wheat. *Crop Journal*, 1(1), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2013.07.012>

- Lafiandra, D., Tucci, G. F., Pavoni, A., Turchetta, T., y Margiotta, B. (1997). PCR analysis of x- and y-type genes present at the complex Glu-A1 locus in durum and bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(2), 235–240. <https://doi.org/10.1007/s001220050405>
- Lagudah, E. S., Flood, R. G., y Halloran, G. M. (1987). Variation in high molecular weight glutenin subunits in landraces of hexaploid wheat from Afghanistan. *Euphytica*, 36(1), 3–9. <https://doi.org/10.1007/BF00730641>
- Langner, M., Krystkowiak, K., Salmanowicz, B. P., Adamski, T., Krajewski, P., Kaczmarek, Z., y Surma, M. (2017). The influence of Glu-1 and Glu-3 loci on dough rheology and bread-making properties in wheat (*Triticum aestivum* L.) doubled haploid lines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(15), 5083–5091. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8385>
- Law, C. N., Snape, J. W., y Worland, A. J. (1978). The genetical relationship between height and yield in wheat. *Heredity*, 40(1), 133–151. <https://doi.org/10.1038/hdy.1978.13>
- Lee, S., Choi, Y.-M., Lee, M.-C., Hyun, D. Y., Oh, S., y Jung, Y. (2018). Geographical comparison of genetic diversity in Asian landrace wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm based on high-molecular-weight glutenin subunits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(6), 1591–1602. <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0633-6>
- Leontaritou, P., Lamari, F. N., Papasotiropoulos, V., y Iatrou, G. (2020). Morphological, genetic and essential oil variation of Greek sage (*Salvia fruticosa* Mill.) populations from Greece. *Industrial Crops and Products*, 150, 112346. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112346>
- Li, X., Liu, T., Song, L., Zhang, H., Li, L., y Gao, X. (2016). Influence of high-molecular-weight glutenin subunit composition at *Glu-A1* and *Glu-D1* loci on secondary and micro structures of gluten in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Food Chemistry*, 213, 728–734. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.043>
- Liu, L., Wang, A., Appels, R., Ma, J., Xia, X., Lan, P., ... Ma, W. (2009). A MALDI-TOF based analysis of high molecular weight glutenin subunits for wheat breeding. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.05.006>
- Liu, S., Chao, S., y Anderson, J. A. (2008). New DNA markers for high molecular weight glutenin subunits in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(1), 177–183. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0886-0>
- Liu, Y., Xiong, Z.-Y., He, Y.-G., Shewry, P. R., y He, G.-Y. (2007). Genetic diversity of HMW glutenin subunit in Chinese common wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Hubei province. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(4), 865–874. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9154-9>
- Lukow, O. M., Payne, P. I., y Tkachuk, R. (1989). The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making

- quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 46(4), 451–460. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740460407>
- Lukow, O.M., Forsyth, S.A., y Payne, P.I. (1992). Over-production of HMW glutenin subunits coded on chromosome 1B in common wheat, *Triticum aestivum*. *Journal of Genetics and Breeding*, 46, 187–192.
- Ma, W., Zhang, W., y Gale, K. R. (2003). Multiplex-PCR typing of high molecular weight glutenin alleles in wheat. *Euphytica*, 134, 61–60.
- MacRitchie, F., y Lafiandra, D. (1997). Structure-function relationships of wheat proteins. En: S. Damodaran y A. Paraf (Eds), *Food Proteins and their Applications* (1ª ed., pp. 293–323). New York: CRC Press.
- Mantel, N.A. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27(2), 209–220.
- Marchylo, B. A., Lukow, O. M., y Kruger, J. E. (1992). Quantitative variation in high molecular weight glutenin subunit 7 in some Canadian wheats. *Journal of Cereal Science*, 15(1), 29–37. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(09\)80054-4](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80054-4)
- Marić, S., Bolarić, S., Martinčić, J., Pejić, I., y Kozumplik, V. (2004). Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant Breeding*, 123(4), 366–369. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.00956.x>
- Martín, I., Lázaro, A., y De la Rosa, L. (1999). Recursos genéticos autóctonos conservados en el CRF-INIA. *Agricultura: Revista agropecuaria y ganadera*, 799, 128–131.
- Martínez, M. D. C., Ruiz, M., y Carrillo, J. M. (2005). Effects of different prolamin alleles on durum wheat quality properties. *Journal of Cereal Science*, 41(1), 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.10.005>
- Matsuoka, Y. (2011). Evolution of polyploid *Triticum* wheats under cultivation: the role of domestication, natural hybridization and allopolyploid speciation in their diversification. *Plant & Cell Physiology*, 52, 750–764. doi: 10.1093/pcp/pcr018
- McIntosh, R.A., Yamazaki, Y., Dubcovsky, J., Rogers, J., Morris, C., Appels, R., y Xia, X.C. (2013). Catalogue of gene symbols for wheat. <https://wheat.pw.usda.gov/GG3/wgc>. Acceso en Mayo de 2020.
- Meirmans, P.G., y P.H. Van Tienderen P.H. (2004). GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular Ecology Notes*, 4(4), 792–794. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00770.x>
- Metakovsky, E. V., Akhmedov, M. G., y Sozinov, A. A. (1986). Genetic analysis of gliadin-encoding genes reveals gene clusters as well as single remote genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 73(2), 278–285. <https://doi.org/10.1007/BF00289286>

- Michelena A., y Martín, J.A. (1990). Evaluación de la calidad en colecciones de germoplasma autóctona de trigo harinero. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 20(1-2), 183–188.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) (15 de enero, 2020). *Anuario de Estadística Agraria*. Recuperado de https://www.mapa.gob.es/es/desarrollo-rural/estadisticas/forestal_estadistica_agraria.aspx
- Mishra, C. N., Tiwari, V., Satish-Kumar, Gupta, V., Kumar, A., y Sharma, I. (2015). Genetic diversity and genotype by trait analysis for agromorphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Sabara Journal of Breeding and Genetics*, 47(1), 40–48.
- Morgunov, A. I., Pena, R. J., Crossa, J., y Rajaram, S. (1993). Worldwide distribution of Glu-1 alleles in bread wheat. *Journal of Genetics and Breeding*, 47(1), 53–60.
- Nazco, R., Villegas, D., Ammar, K., Peña, R. J., Moragues, M., y Royo, C. (2012). Can Mediterranean durum wheat landraces contribute to improved grain quality attributes in modern cultivars? *Euphytica*, 185(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0588-6>
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583–590.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press. <https://doi.org/10.7312/nei-92038>
- Nevo, E., y Payne, P. I. (1987). Wheat storage proteins: diversity of HMW glutenin subunits in wild emmer from Israel. *Theoretical and Applied Genetics*, 74(6), 827–836. <https://doi.org/10.1007/BF00247564>
- Nevo, E., y Beiles, A. (1989). Genetic diversity of wild emmer wheat in Israel and Turkey. *Theoretical and Applied Genetics*, 77(3), 421–455. <https://doi.org/10.1007/BF00305839>
- Oliveira, J. A., y Gómez-Ibarlucea, C. (1997). El cultivo del trigo en Galicia: situación actual y perspectivas. En: *IX Jornadas Técnicas sobre la calidad de los trigos de España*. Asociación Española de Técnicos Cerealistas. 30-31 de octubre. Zaragoza.
- Oliveira, J. A., Mezquita, F., Teijeiro, T., Gómez-Ibarlucea, C., y Piñeiro, J. (2000). Agromorphological and grain quality characterisations of northern Spanish wheats under low-nitrogen conditions. *Agronomie*, 20(6), 683–689. <https://doi.org/10.1051/agro:2000160>
- ONU (1992). *Convenio sobre la Diversidad Biológica*. Recuperado de www.cbd.int/convention/convention.shtml
- Orden de 31 de enero de 1977, por la que se establecen los Métodos Oficiales de Análisis de Aceites y Grasas, Cereales y Derivados, Productos Lácteos y Productos Derivados de la Uva. BOE núm. 167, de 14 de julio de 1977.

- Pang, B. S., y Zhang, X. Y. (2008). Isolation and molecular characterization of high molecular weight glutenin subunit genes 1Bx13 and 1By16 from hexaploid wheat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(3), 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2007.00573.x>
- Payne, P. I., Corfield, K. G., y Blackman, J. A. (1979). Identification of a high-molecular-weight subunit of glutenin whose presence correlates with bread-making quality in wheats of related pedigree. *Theoretical and Applied Genetics*, 55(3–4), 153–159.
- Payne, P. I., Law, C. N., y Mudd, E. E. (1980). Control by homoeologous group 1 chromosomes of the high-molecular-weight subunits of glutenin, a major protein of wheat endosperm. *Theoretical and Applied Genetics*, 58(3–4), 113–120. <https://doi.org/10.1007/BF00263101>
- Payne, P. I., Corfield, K.G., Holt, L. M., y Blackman, J. A. (1981a). Correlations between the inheritance of certain high-molecular-weight subunits of glutenin and bread-making quality in progenies of six crosses of bread wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32(1), 51–60. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320109>
- Payne, P. I., Holt, L. M., y Law, C. N. (1981b). Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin - Part 1: Allelic variation in subunits amongst varieties of wheat (*Triticum aestivum*). *Theoretical and Applied Genetics*, 60(4), 229–236. <https://doi.org/10.1007/BF02342544>
- Payne, P. I., Holt, L. M., Worland, A. J., y Law, C. N. (1982). Structural and genetical studies on the high-molecular-weight subunits of wheat glutenin - Part 3. Telocentric mapping of the subunit genes on the long arms of the homoeologous group 1 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 63(2), 129–138. <https://doi.org/10.1007/BF00303695>
- Payne, P.I. y Lawrence, G.J. (1983). Catalogue of alleles for the complex gene loci Glu-A1, Glu-B1 and Glu-D1 which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Research Communications*, 11(1), 29–35.
- Payne, P. I., Holt, L. M., Jackson, E. A., y Law, C. N. (1984). Wheat storage proteins: their genetics and their potential for manipulation by plant breeding. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 304(1120), 359–371. <https://doi.org/10.1098/rstb.1984.0031>
- Payne, P. I. (1987). Genetics of Wheat Storage Proteins and the Effect of Allelic Variation on Bread-Making Quality. *Annual Review of Plant Physiology*, 38(1), 141–153. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.001041>
- Payne, P. I., Seekings, J. A., Worland, A. J., Jarvis, M. G., y Holt, L. M. (1987). Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: Analysis of F5 progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A). *Journal of Cereal Science*, 6(2), 103–118. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(87\)80047-4](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(87)80047-4)

- Peña, R. J., Zarco-Hernandez, J., y Mujeeb-Kazi, A. (1995). Glutenin subunit compositions and breadmaking quality characteristics of synthetic hexaploid wheats derived from *Triticum turgidum* × *Triticum tauschii* (coss.) schmal crosses. *Journal of Cereal Science*, 21(1), 15–23. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(95\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(95)80004-2)
- Pflüger, L. A., Martín, L. M., y Alvarez, J. B. (2001). Variation in the HMW and LMW glutenin subunits from Spanish accessions of emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *Dicoccum* Schrank). *Theoretical and Applied Genetics*, 102(5), 767–772. <https://doi.org/10.1007/s001220051708>
- Pillar, V.D. (1997). Multivariate Exploratory Analysis and Randomization Testing using MULTIV. *Coenoses*, 12(2/3), 145–148. Recuperado de <http://www.jstor.org/stable/43461204>
- Pillar, V.D. (2006). *MULTIV: Multivariate Exploratory Analysis and Randomization Testing. User's Guide*. Brasil: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Planellas, J. (1852). *Ensayo de una flora fanerogámica gallega*. Santiago: Imprenta y litografía de J. Rey Romero.
- Pogna, N.E., Mellini, F. (1986). Alla ricerca delle basi biochimiche e genetiche della qualità del glutenine. *Inform. Agrario*, 42, 65–66.
- Pogna, N.E., Mellini, F., y Dal Belin Peruffo, A. (1987). Glutenin subunits of Italian common wheats of good bread-making quality and comparative effects of high molecular weight glutenin subunits 2 and 5, 10 and 12 on flour quality. En: B. Borghi (Ed.), *Hard wheat: agronomic, technological, biochemical and genetical aspects* (pp. 53–69). Bruselas: CEC publications.
- Pogna, N. E., Mellini, F., Beretta, A., y Dal Belin Peruffo, A. (1989). The high-molecular-weight glutenin subunits of common wheat cultivars grown in Italy. *Journal of Genetics and Breeding*, 43(1), 17–24.
- Pons, O., y Petit, R. J. (1996). Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics*, 144(3), 1237–1245. <https://doi.org/10.1093/genetics/144.3.1237>
- Prysiashniuk, L., Shytikova, Y., Dikhtiar, I., y Mizerna, N. (2019). Evaluation of genetic and morphological distances between soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Zemdirbyste*, 106(2), 117–122. <https://doi.org/10.13080/z-a.2019.106.015>
- Pujol, J. (1998). Las innovaciones biológicas en la agricultura española antes de 1936: el caso del trigo. *Agricultura y sociedad*, 86, 163–182. ISSN 0211-8394
- Ragupathy, R., Naeem, H. A., Reimer, E., Lukow, O. M., Sapirstein, H. D., y Cloutier, S. (2008). Evolutionary origin of the segmental duplication encompassing the wheat GLU-B1 locus encoding the overexpressed Bx7 (Bx7OE) high molecular weight glutenin subunit. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(2), 283–296. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0666-2>

- Ramil-Rego, P. (1993). Paleothnobotánica de yacimientos arqueológicos holocenos de Galicia (NO Cantábrico). *Munibe Antropologia - Arkeologia*, 45, 165-174. ISSN 1132-2217
- Ramil-Rego, P., Gómez-Orellana, L., y Tereso, J. (2018). La Ceres Galaico-Minhota en el contexto de la Ceres Hispanica: Datos para una historia. En: M.A. Romero; S. Pereira (coords.), *Respostas ás preguntas sobre o pan e o cereal do país* (p. 43-64). Lugo: Monografías país. Monografías do Ibader - Serie Recursos Alimentarios 1. Ibader. Universidad de Santiago de Compostela.
- Rapp, M., Beck, H., Gütler, H., Heilig, W., Starck, N., Roemer, P., Cuendet, C., Uhlig, F., Kurz, H., Würschum, T., y Longin, C.F. (2017). Spelt: Agronomy, Quality, and Flavor of Its Breads from 30 Varieties Tested across Multiple Environments. *Crop Science*, 57, 739-747. doi: 10.2135/cropsci2016.05.0331
- Rasheed, A., Safdar, T., Gul-Kazi, A., Mahmood, T., Akram, Z., y Mujeeb-Kazi, A. (2012). Characterization of HMW-GS and evaluation of their diversity in morphologically elite synthetic hexaploid wheats. *Breeding Science*, 62(4), 365-370. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.62.365>
- Redaelli, R., Pogna, N. E., y Ng, P. K. W. (1997). Effects of prolamins encoded by chromosomes 1B and 1D on the rheological properties of dough in near-isogenic lines of bread wheat. *Cereal Chemistry*, 74(2), 102-107. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.2.102>
- Reed, D. H., y Frankham, R. (2001). How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution*, 55(6), 1095-1103. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00629.x>
- Reif, J.C., Zhang, P., Dreisigacker, S., Warburton, M.L., van Ginkel, M., Hoisington, D., Bohn, M., Melchinger, A.E. (2005). Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Theoretical and Applied Genetics*, 110, 859-864.
- Rharrabti, Y., Villegas, D., Royo, C., Martos-Núñez, V., y García Del Moral, L. F. (2003). Durum wheat quality in Mediterranean environments II. Influence of climatic variables and relationships between quality parameters. *Field Crops Research*, 80(2), 133-140. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(02\)00177-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00177-6)
- Ribeiro, M., Carvalho, C., Carnide, V., Guedes-Pinto, H., y Igrejas, G. (2011). Towards allelic diversity in the storage proteins of old and currently growing tetraploid and hexaploid wheats in Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(7), 1051-1073. <https://doi.org/10.1007/s10722-010-9642-9>
- Ribeiro, M., Bancel, E., Faye, A., Dardevet, M., Ravel, C., Branlard, G., y Igrejas, G. (2013). Proteogenomic characterization of novel x-type high molecular weight glutenin subunit 1Ax1.1. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5650-5667. <https://doi.org/10.3390/ijms14035650>

- Rodríguez-Quijano, M., Vázquez, J. F., y Carrillo, J. M. (1990). Variation of high molecular weight glutenin subunits in Spanish landraces of *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* and ssp. *spelta*. *Journal of Genetics and Breeding*, 44(2), 121–126.
- Rodríguez-Quijano, M., y Carrillo, J. M. (1994). Relación entre subunidades de gluteninas de alto peso molecular y fuerza del gluten en cultivares indígenas españoles de *Triticum aestivum* ssp. *vulgare*. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.*, 9(3).
- Rodríguez-Quijano, M., Vázquez, J. F., Moita-Brites, C., y Carrillo, J. M. (1998). Allelic variation of HMW glutenin subunits in Portuguese landraces of *Triticum aestivum* ssp. *vulgare*. *Journal of Genetics and Breeding*, 52(1), 95–98.
- Rogers, J.S. (1972). Measures of genetic similarity and genetic distance. En: *Studies in Genetics VII* (pp. 145-153). Austin, Texas: University of Texas.
- Rohlf, F.J. (2003). NTSYS-pc - Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System v.2.1. *Applied Biostatistics Inc.* New York: Exeter Software.
- Routray, P., Basha, O., Garg, M., Singh, N. K., y Dhaliwal, H. S. (2007). Genetic diversity of landraces of wheat (*Triticum aestivum* L.) from hilly areas of Uttaranchal, India. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54(6), 1315–1326. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9112-6>
- Ruiz, M., Metakovsky, E. V., Rodríguez-Quijano, M., Vazquez, J. F., y Carrillo, J.M. (2002). Assessment of storage protein variation in relation to some morphological characters in a sample of Spanish landraces of common wheat (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49, 373–384. <https://doi.org/10.1023/A:1020626430815>
- Ruiz, M., Giraldo, P., Royo, C., Villegas, D., Jose Aranzana, M., y Carrillo, J. M. (2012). Diversity and genetic structure of a collection of spanish durum wheat landraces. *Crop Science*, 52(5), 2262–2275. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.02.0081>
- Ruiz, M., Bernal, G., y Giraldo, P. (2018). An update of low molecular weight glutenin subunits in durum wheat relevant to breeding for quality. *Journal of Cereal Science*, 83, 236–244. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.09.005>
- Sahuquillo, E., y Fraga, M.I. (1991). *Trigos de cultivo tradicional en Galicia: caracterización botánica e agronómica*. Santiago de Compostela: Xunta de Galicia, Consellería de Agricultura.
- Sancho, F. (1949). Trigos tremesinos o de ciclo corto. *Hojas divulgadoras*, 3(49 H), 1-12. Madrid: Ministerio de Agricultura.
- Salazar y Vigil de Quiñones, J. (1958). Cultivo de trigo en secano. *Hojas Divulgadoras*, 6 (58H). Madrid: Ministerio de Agricultura.
- Sánchez-Monge, E., y Villena, L.M. (1952). La clasificación varietal de “*Triticum aestivum*” L. s.l. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*, 2 (3-4), 250-269.

- Sánchez-Monge, E. (1957). *Catálogo Genético de Trigos Españoles*. Madrid. Publicaciones del Ministerio de Agricultura.
- SAS Institute Inc (2017) The SAS system for windows. 9.4 edition. SAS Institute Inc. (Ed.). Cary, Carolina del Norte, USA.
- Shewry, P. R., Halford, N. G., y Tatham, A. S. (1992). High molecular weight subunits of wheat glutenin. *Journal of Cereal Science*, 15, 105–120. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(09\)80062-3](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80062-3)
- Shewry P.R. (1996). Cereal grain proteins. En: R.J. Henry, P.S. Kettlewell (Eds). *Cereal Grain Quality* (pp. 227–250). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1513-8_8
- Shewry, P. R., Popineau, Y., Lafiandra, D., y Belton, P. (2001). Wheat glutenin subunits and dough elasticity: Findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science and Technology*, 11(12), 433–441. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00035-8](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00035-8)
- Shewry, P. R., y Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: Structures, properties, and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947–958. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>
- Shewry, W. P. R. (2009). WHEAT. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537–1553. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>
- Singh, N. K., Shepherd, K. W., y Cornish, G. B. (1991). A simplified SDS—PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *Journal of Cereal Science*, 14(3), 203–208. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(09\)80039-8](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(09)80039-8)
- Silvela, F. (1941). Generalidades sobre reconocimiento de trigos y harinas. *Hojas divulgadoras*, 9, 7-13. Año XXXIII. Madrid: Ministerio de Agricultura.
- Smouse, P.E., Long, J.C., y Sokal, R.R. (1986). Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Systematic Zoology*, 35, 627–632.
- Song, W. F., Ren, Z. Y., Zhang, Y. B., Zhao, H. B., Lv, X. B., Li, J. L., ... Xiao, Z. M. (2015). Effects of allelic variation in Glutenin subunits and gliadins on baking-quality in near-isogenic lines of common wheat cv. Longmai 19. *Cereal Research Communications*, 43(2), 284–294. <https://doi.org/10.1556/CRC.2014.0041>
- Soto, D. (2015). Del manejo multifuncional del territorio a la desarticulación productiva: cambios en los flujos de biomasa durante el proceso de industrialización de la agricultura gallega (1960-2012). Sociedad Española de Historia Agraria. Documento de trabajo. DT-SEHA n.15-05. Recuperado de <https://core.ac.uk/download/pdf/61462116.pdf>
- SPSS. (2006). SPSS for Windows, Version 15.0. SPSS Inc, Chicago, IL.

- Tahir, M., Turchetta, T., Anwar, R., y Lafiandra, D. (1996). Assessment of genetic variability in hexaploid wheat landraces of Pakistan based on polymorphism for HMW glutenin subunits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43(3), 211–220. <https://doi.org/10.1007/BF00123273>
- Tanaka, K., Yamauchi, H., Nishio, Z., y Kuwabara, T. (2000). Effect of High Molecular Weight Glutenin Subunits on Bread-Making Quality Using Near-Isogenic Lines. *Breeding Science*, 50, 303–308. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.50.303>
- Teklu, Y., Hammer, K., y Röder, M. (2005). Comparative analysis of diversity indices and genetic relationships based on agronomic traits and microsatellites in Ethiopian tetraploid wheats. *Journal of Genetics and Breeding*, 59, 121–130.
- Téllez Molina, R., y Alonso Peña, M. (1952). *Los trigos de la Ceres Hispánica de Lagasca y Clemente*. Madrid: Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.
- Terasawa, Y., Kawahara, T., Sasakuma, T., y Sasanuma, T. (2009). Evaluation of the genetic diversity of an Afghan wheat collection based on morphological variation, HMW glutenin subunit polymorphisms, and AFLP. *Breeding Science*, 59(4), 361–371. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.59.361>
- Tikhonova, M., Ingver, A., y Koppel, R. (2018). Identification of Glu-A1 and Glu-D1 High Molecular Weight Glutenin Subunits of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) Using Genetic Markers. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, Section B: Natural, Exact, and Applied Sciences*, 72(6), 349–357. <https://doi.org/10.2478/prolas-2018-0047>
- Tohver, M. (2007). High molecular weight (HMW) glutenin subunit composition of some Nordic and Middle European wheats. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 67–81. <https://doi.org/10.1007/s10722-005-1885-5>
- Tsunewaki, K. (1966). Comparative gene analysis of common wheat and its ancestral species. III. Glume hairiness. *Genetics*, 53(2), 303–311.
- UPOV (1994). Guidelines for the conduct of test for distinctness, homogeneity and stability (wheat). TG/3/11 (proj), 34p. Recuperado de
- Urquijo, L. (2018). ¿Cómo recuperar los ecotipos autóctonos?. En: M.A. Romero Rodríguez, y S. Pereira Lorenzo (Coords), *Respostas ás preguntas sobre o pan e o cereal do país* (pp. 31-38). Lugo: Monografías país. Monografías do Ibader - Serie Recursos Alimentarios 1. Ibader. Universidade de Santiago de Compostela.
- Valkoun, J. J. (2001). Wheat pre-breeding using wild progenitors. *Euphytica*, 119(1), 17–23. <https://doi.org/10.1023/A:1017562909881>
- Vanhala, T. K., van Rijn, C. P. E., Buntjer, J., Stam, P., Nevo, E., Poorter, H., y van Eeuwijk, F. A. (2004). Environmental, phenotypic, and genetic variation of wild barley (*Hordeum spontaneum*) from Israel. *Euphytica*, 137(3), 297–309. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040450.91906.c5>

- Van Hintum, T.J.L., A.H.D. Brown, C. Spillane, y T. Hodgkin. (2000). *Core collections of plant genetic resources*. IPGRI. Technical Bulletin No.3. Rome: International Plant Genetic Resources Institute.
- van Slageren, M.W. (1994). Classification of *Triticum*. Recuperada de https://www.k-state.edu/wgrc/wheat_tax/Taxonomy/taxvsltr.html
- Vargas, M.E. (2016). Evaluación de la calidad funcional y sensorial en cultivares de *Triticum aestivum* ssp. *vulgare* y ssp. *spelta* en cultivo ecológico (Tesis Doctoral no publicada). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.
- Vawser, M., G.B. Cornish, y K.W. Shepherd. (2002). Rheological dough properties of Aroona isolines differing in glutenin subunit composition. En C.K. Black, J. F. Panozzo, C.W. Wrigley, I.L. Batey y N. Larsen (Ed.), *Cereals* (pp. 53–58). Melbourne: Royal Aust. Chem. Inst.
- Wang, H.Y., Wang, X.E., Chen P.D., y Liu D.J. (2005). Allelic variation and genetic diversity at HMW glutenin subunits loci in Yunnan, Tibetan and Xinjiang wheat. *Agric Sci China*, 38, 228–233.
- Wang, J., Luo, M. C., Chen, Z., You, F. M., Wei, Y., Zheng, Y., et al. (2013). Aegilops tauschii single nucleotide polymorphisms shed light on the origins of wheat D-Genome genetic diversity and pinpoint the geographic origin of hexaploid wheat. *New Phytol.* 198, 925–937. doi: 10.1111/nph.12164
- Wang, X., Zhang, Y., Zhang, B., Florides, C. G., Gao, Z., Wang, Z., ... Wei, Y. (2018). Comparison of quality properties between high-molecular-weight glutenin subunits 5 + 10 and 2 + 12 near-isogenic lines under three common wheat genetic backgrounds. *Cereal Chemistry*, 95(4), 575–583. <https://doi.org/10.1002/cche.10061>
- Weir, B. S., y Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6), 1358. <https://doi.org/10.2307/2408641>
- Wheat Genetics Resource Center (2020). Wheat Taxonomy. Recuperado de https://www.k-state.edu/wgrc/wheat_tax/index.html
- Wieser, H., y Kieffer, R. (2001). Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. *Journal of Cereal Science*, 34(1), 19–27. <https://doi.org/10.1006/jcrs.2000.0385>
- Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24, 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.004>
- Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Annals of eugenics*, 15(4), 323–354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x>
- Wright, S. (1965). The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution*, 19(3), 395–420. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x>

- Wright, S. (1990). Evolution in mendelian populations. *Bulletin of Mathematical Biology*, 52(1–2), 241–295. <https://doi.org/10.1007/BF02459575>
- Wrigley, C. W. (1996). Giant proteins with flour power. *Nature* 381:738-739.
- Wrigley, C., Asenstorfer, R., Batey, I., Cornish, G., Day, L., Mares, D. y Mrva, K. (2009). The Biochemical and Molecular Basis of Wheat Quality. *Wheat Science and Trade*, (7), 495–520. <https://doi.org/10.1002/9780813818832.ch21>
- Würschum, T., Leiser, W.L., Langer, S.M., Tucker, M.R. y Longin, C.F.H. (2018). Phenotypic and genetic analysis of spike and kernel characteristics in wheat reveals long-term genetic trends of grain yield components. *Theoretical and Applied Genetics*, 131, 2071–2084 <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3133-3>
- Xunta de Galicia (15 de enero, 2020). *Anuario de Estadística Agraria*. Recuperado de <https://mediorural.xunta.gal/es/recursos/estadisticas/estadistica-agraria>
- Yan, Y., Hsam, S. L. K., Yu, J. Z., Jiang, Y., Ohtsuka, I., y Zeller, F. J. (2003). HMW and LMW glutenin alleles among putative tetraploid and hexaploid European spelt wheat (*Triticum spelta* L.) progenitors. *Theoretical and Applied Genetics*. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1315-z>
- Yan, Z.H., Dai, S.F., Liu, D.C., Wei, Y.M., y Zheng, Y.L. (2007). Allelic variation of high molecular weight glutenin subunits in the hexaploid wheat landraces of Tibet, China. *International Journal of Agricultural Research*, 2(9), 838–843. <https://doi.org/10.3923/ijar.2007.838.843>
- Yasmeen, F., Khurshid, H., y Ghafoor, A. (2015). Genetic divergence for high-molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) in indigenous landraces and commercial cultivars of bread wheat of Pakistan. *Genetics and Molecular Research*, 14(2), 4829–4839. <https://doi.org/10.4238/2015.May.11.15>
- Zadoks, J. C., Chang, T. T., y Konzak, C. F. (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14, 415-421. Oxford
- Zaitseva, O. I., Burakova, A. A., Babkenov, A. T., Babkenova, S. A., Utebayev, M. U., y Lemesh, V. A. (2017). Allelic variation of high-molecular-weight glutenin genes in bread wheat. *Cytology and Genetics*, 51(6), 432–440. <https://doi.org/10.3103/S0095452717060123>
- Zeven, A. C. (1998). Landraces: A review of definitions and classifications. *Euphytica*, 104, 127-139.
- Zhang, X., Pang, B. S., You, G.-X., Wang, L. F., Jia, J. Z., y Dong, Y. C. (2002). Allelic variation and genetic diversity at Glu-1 loci in Chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasms. *Scientia Agricultura Sinica*, 35, 1302–1310.
- Zheng, S., Byrne, P. F., Bai, G., Shan, X., Reid, S. D., Haley, S. D., y Seabourn, B. W. (2009). Association analysis reveals effects of wheat glutenin alleles and rye

translocations on dough-mixing properties. *Journal of Cereal Science*, 50(2), 283–290. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.06.008>

Zou, Z.T., y Yang, W.Y. (1995). Development of wheat germplasm research in Sichuan province. *Crop Genetic Resources*, 2, 19–20.





7. ANEXOS



ANEXO 1: Localización de accesiones y equivalencia de numeración en ensayo de campo (nºEny), con numeración del Banco de Germoplasma (nºBG)

Nº ENY	Nº BG	PROVINCIA	CONCELLO	PARROQUIA	LUGAR
1	1757	Lugo	Fonsagrada, A	Carballido	Llacín (1)
2	1758	Lugo	Fonsagrada, A	Carballido	Llacín (2)
3	1759	Lugo	Fonsagrada, A	Cuiñas	Castro
4	1760	A Coruña	Narón	O Val	Vilacornelle
5	1761	A Coruña	Narón	O Val	Pradado (1)
6	1762	A Coruña	Narón	O Val	Pradado (2)
7	1763	Lugo	Abadín	Baroncelle	Casavella
8	1764	Lugo	Abadín	Romariz	Espiñarcao
9	1765	Lugo	Abadín	Romariz	Romariz
10	1766	Lugo	Mondoñedo	S. de Mondoñedo	San Pedro
11	1767	Pontevedra	Vila de Cruces	Brandariz	Brandomés
12	1768	Ourense	Monterrei	Flariz	-
13	1769	A Coruña	Tordoia	Tordoia	A Eirexe
14	1770	A Coruña	Tordoia	Gorgullos	Santaia
15	1771	A Coruña	Ordenes	Mercurín	O Souto
16	1772	A Coruña	Tordoia	Bardaos	A Nogueira
17	1773	A Coruña	Moeche	S. Cruz de Moeche	Carracedo
18	1774	A Coruña	Melide	Moldes	Mirce
19	1775	Ourense	Manzaneda	Requeixo	Requeixo
21	1777	Lugo	Baleira	Córneas	Vilardoi
22	1778	Lugo	Baleira	Córneas	Revedul
23	1779	Lugo	Baleira	A Fontaneira	A Pasada
24	1780	A Coruña	Malpica	Buño	A Xaviña
25	1781	A Coruña	Carballo	Berdillo	-
26	1782	A Coruña	Carballo	Oza	-
27	1783	A Coruña	Coristanco	Oca	-
28	1784	A Coruña	Zas	Lamas	Andregalla
29	1785	A Coruña	Zas	Vilar	Vilar
30	1786	A Coruña	Vimianzo	Serramo	A Carballa
31	1787	A Coruña	Vimianzo	Treos	Carnio
32	1788	Lugo	Vicedo, O	S.Miguel de Negradas	Creximil
33	1789	Lugo	Vicedo, O	S.Román de Vale	A Lama de Baixo
34	1790	Lugo	Vicedo, O	Mosende	A Penela
35	1791	Lugo	Vicedo, O	S.Román de Vale	A Costa
36	1792	Lugo	Vicedo, O	Riobarba	O Vilar
37	1793	Ourense	Xunq.Espadañedo	Xunq.de Espadañedo	Espadañedo
38	1794	Ourense	Maceda	Tioira	Cimadevila
39	1795	Lugo	Folgoso do Courel	Seoane	Mercurín 1
40	1796	Lugo	Folgoso do Courel	Noceda	Noceda
41	1797	Lugo	Folgoso do Courel	Esperante	Mostaz
42	1798	Lugo	Folgoso do Courel	Esperante	Millares
43	1799	Lugo	Folgoso do Courel	Seoane	Mercurín 2
44	1800	Lugo	Folgoso do Courel	Esperante	Millares 2
45	1801	A Coruña	Cerdido	Cerdido	Chao
46	1802	A Coruña	Sobrado	Grixalba	A Brixaría
47	1803	A Coruña	Sobrado	Cumbraos	Vila do Monte
48	1804	A Coruña	Sobrado	A Porta	Acea
49	1805	A Coruña	Sobrado	A Porta	Acea
50	1806	Ourense	San Xoán de Río	As Cabanas	Valados
51	1807	Lugo	Xermade	Burgás	-

Anexo 1. Continuación

Nº ENY	Nº BG	PROVINCIA	CONCELLO	PARROQUIA	LUGAR
52	1808	Lugo	Vilalba	Lanzós	-
53	1809	Lugo	Xermade	Cazás	Rozas Vedras
54	1810	Lugo	Vilalba	S.Simón da Costa	-
55	1811	Lugo	Vilalba	Goiriz	-
56	1812	A Coruña	Cedeira	Montoxo	Mundín
57	1813	Lugo	Folgozo do Courel	Vilamor	Vilamor
58	1814	A Coruña	Mañón	Mañón	-
59	1815	A Coruña	Ortigueira	Couzadoiro	Ventosa
61	1817	Ourense	Rairiz de Veiga	Guillamil	Nigueiroá
62	1818	Lugo	Outeiro de Rei	Martul	-
63	1819	Lugo	Páramo, O	Moscan	-
64	1820	Lugo	Páramo, O	Moscan	-
68	1824	A Coruña	Miño	Calobre	-
69	1825	A Coruña	Miño	Calobre	-
70	1826	Ourense	Viana do Bolo	Caldesiños	Caldesiños
71	1827	Ourense	Viana do Bolo	Bembibre	Bembibre
72	1828	Lugo	Triacastela	Toldaos	Toldaos
73	1829	Lugo	Samos	Freixo	Escanlar
74	1830	A Coruña	Outes	Valadares	Terelle
75	1831	A Coruña	Outes	Outes	Mirás
76	1832	A Coruña	Outes	Matasueiro	Mastontán
77	1833	A Coruña	Lousame	Tallara	Guende
78	1834	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
79	1835	Lugo	Lugo	Santa Comba	-
80	1836	Ourense	Baltar	Vilamaior da Boullosa	Vilamaior da Boullosa
81	1837	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
82	1838	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
83	1839	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
84	1840	Ourense	Trasmiras	Vilaseca	-
85	1841	Ourense	Trasmiras	Vilaseca	-
86	1842	Lugo	Lugo	Santa Comba	-
87	1843	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
88	1844	Ourense	Baltar	Vilamaior da Boullosa	Vilamaior da Boullosa
89	1845	Ourense	A Gudiña	A Gudiña	A Gudiña
90	1846	Lugo	Lugo	Recemil	Nadela
91	1848	A Coruña	Bergondo	Vixoy	Trasdoval
92	1849	A Coruña	Oza dos Ríos	Oza dos Ríos	Carraceda
93	1850	A Coruña	Oza dos Ríos	Cis	A Serra
94	1852	A Coruña	Santa Comba	Cícere	Espasandín
95	1857	Ourense	Xinzo de Limia	A Pena	A Pena
96	1858	Ourense	Xinzo de Limia	Damil	Damil
97	1864	Lugo	Folgozo do Courel	Noceda	Noceda
98	1865	Lugo	Guitiriz	Os Vilares	A Tolda
99	1868	Lugo	Baleira	Corneas	Fontecabada
100	1869	Lugo	Castroverde	S.Andres de Barredo	Barredo
101	1872	Lugo	Baleira	Corneas	Vilardoi
102	1873	A Coruña	Vedra	Illobre	-
103	1874	A Coruña	Vedra	Trove	-
104	1875	A Coruña	Boqueixón	Lamas	-
106	1879	A Coruña	Santiago	Sabugueira	A Lavacolla

Anexo 1. Continuación

Nº ENY	Nº BG	PROVINCIA	CONCELLO	PARROQUIA	LUGAR
107	1880	A Coruña	Santiago	Sabugueira	A Lavacolla
108	1881	A Coruña	Santiago	Sabugueira	A Lavacolla
109	1882	Lugo	Becerreá	Tortes	O Freixo
110	1883	Lugo	As Nogais	Tores	Estacas
111	1886	A Coruña	Miño	Callobre	-
112	1887	A Coruña	Muxía	San Martiño de Ozón	Agranzón
113	1889	A Coruña	Abegondo	Viós	-
114	1890	Lugo	Palas de Rei	Pidre	Laxe
115	1891	A Coruña	Melide	Santalla de Agrón	As Lamelas
116	1906	Lugo	Lourenzá	S. Tomé de Lourenzá	Pontigo,
117	1907	Lugo	Barreiros	S.Xusto	Val do Caínzo
118	1908	Lugo	Barreiros	S.Xusto	Plazas
119	1909	Lugo	Trabada	Trabada	Cimadevila
120	1910	Lugo	Riotorto	Riotorto	A Veiga
121	1911	Lugo	Pastoriza	Fonmiñá	O Tombo
122	1912	Lugo	Meira	Meira	Vilar de Mouros
123	1913	Lugo	Pol	S. Martiño de Ferreirós	Porrás
124	1914	Lugo	Castro de Rei	Ansemar	Carril
125	1915	Lugo	Castro de Rei	Triabá	Barrio da Ponte
126	1916	Lugo	Antas de Ulla	Areas	A Somoza
127	1917	Lugo	Saviñao, O	S. Sadurniño de Piñeiró	Villarreme
128	1918	Lugo	Alfoz	S. Pedro de Mor	Vilaude
129	1919	A Coruña	Capela, A	Cabalar	Igrexa de Cabalar
130	1920	Pontevedra	Lalín	Goiás	Goiás
131	1921	Pontevedra	Agolada	Ferreiroá	Bidueiros
132	1922	A Coruña	Santiso	Serantes	Mosteiro
133	1923	Lugo	Viveiro	Chavín	Rubeira
134	1924	Lugo	Cervo	Castelo	O Seixo
135	1925	Lugo	Friol	Guimarei	Guimarei de Arriba
136	1926	Lugo	Xove	A Rigueira	Vila
137	1927	Lugo	Monterroso	Pol	Pol
138	1928	Lugo	Ouro	Xerdíz	Nogarido
139	1929	Lugo	Foz	S. Cilla	Vilatuís
140	1930	A Coruña	Pontes, As	As Pontes	As Pontes
141	1931	A Coruña	Toques	Paradela	Paradela
142	1932	Lugo	Valadouro, O	A Laxe	Masián
143	1934	Pontevedra	Rodeiro	Guillar	Arcas
144	1935	Lugo	Sober	Proendos	Mer
145	1936	Ourense	S. Cristovo de Cea	Longos	Irexevella
146	1937	Lugo	Monforte de Lemos	Distriz	Babela
147	1938	Lugo	Sober	Proendos	Mer
149	1942	Pontevedra	Dozón	Bidueiros	Bidueiros
150	1943	Ourense	Carballiño	Lobás	Trigás
151	1944	Lugo	Carballedo	Veascós	Lamela
152	1945	Ourense	Piñor	Loeda	Ovenza
153	1946	Lugo	Antas de Ulla	Areas	A Somoza
154	1947	Lugo	Guntín	Pradeda	A Goia
155	1949	Pontevedra	Caldas de Reis	Arcos da Condessa	Badoucos
156	1950	Pontevedra	Portas	Lantaño	Almirante
157	1952	A Coruña	Frades	Abellá	Sobre dos Campos

Anexo 1. Continuación

Nº ENY	Nº BG	PROVINCIA	CONCELLO	PARROQUIA	LUGAR
158	1953	A Coruña	Mesía	Xanceda	O Castro
159	1954	A Coruña	Boimorto	Buazo	Forxa
160	1955	A Coruña	Vilasantar	Vilasantar	Ru
162	1957	A Coruña	Cesuras	Bragade	A Fonte
163	1958	A Coruña	Cesuras	Bragade	Samede
164	1959	A Coruña	Pino, O	S. Mamede de Ferreirós	Frechazo Primeiro
165	1960	A Coruña	Touro	Quión	Abelenda
166	1961	A Coruña	Oroso	Gándara	Oroso de Abaixo
167	1962	A Coruña	Trazo	Xavestre	Pontealbar
168	1963	A Coruña	Baña, A	Cabanas	Cabanas (Lg Grande)
169	1964	A Coruña	Val do Dubra	Rial	Viso
170	1965	A Coruña	Brion	Luaña	Vioxo de Abaixo
171	1966	A Coruña	Negreira	Logrosa	Abeanca
172	1967	A Coruña	Arzúa	S. Martín de Calvos	A Igrexa (O Pinar)
173	1969	Ourense	Cartelle	S. Miguel de Espiñoso	Espiñoso
174	1970	Ourense	S.Cibrao das Viñas	Soutopenedo	Montelongo de Abaixo
175	1971	Ourense	Merca	Merca	Vilachá
176	1972	Ourense	Merca	Merca	Vilachá
177	1975	Ourense	Verea	Ourille	Igrexa Ourille
179	1980	Ourense	Leiro	Lamas	Nogueira
180	1984	A Coruña	Coirós	S. María de Ois	Castrillón
181	1985	A Coruña	Aranga	Muniferral	Regueiral
182	1986	A Coruña	Pontedeume	Nogueirosa	Cru do Cabildo
183	1987	A Coruña	Vilarmajor	Doroña	Breanca
184	1988	A Coruña	Monfero	Queixeiro	Vilafail
185	1989	A Coruña	Irixoa	Coruxou	Gándara do Campo
186	1990	Pontevedra	Estrada, A	Baloira	A Igrexa
187	1991	Pontevedra	Cuntis	Cequeril	Penela
188	1992	Pontevedra	Campolameiro	S. Cristobal de Couso	Couso
189	1993	Pontevedra	Moraña	S. Xusta de Moraña	Rial
190	1994	Pontevedra	Valga	Setecoros	Regenco
191	1996	Lugo	Silleda	Ansemil	Lugar da Igrexa
192	1997	A Coruña	Teo	Rarís	Rarís
193	1998	Ourense	Xinzo de Limia	Damil	-
194	2029	-	-	Línea de mejora	-
195	2030	-	-	Línea de mejora	-
196	2031	-	-	Línea de mejora	-
197	1999	A Coruña	Oza dos Rios	Porzomillos	Vilar de Costoia
198	2000	A Coruña	Sobrado	Folgozo	Carballas
199	2001	A Coruña	Toques	-	-
200	2002	A Coruña	Santiso	Santaia de Rairiz	Casas Novas
201	2003	Pontevedra	Oia	Burgueira	Vilariño
202	2004	A Coruña	Porto do Son	San Pedro de Muro	Serans
203	2005	A Coruña	Porto do Son	San Pedro de Muro	Serans
204	2006	A Coruña	Zas	San Martiño de Meanos	Langueirón
205	2007	Pontevedra	Fornelo de Montes	Traspielas	Pardalongas
206	2026	Ourense	Baltar	Garabelos do Bouzo	Garabelos
207	2027	A Coruña	Carral	Tabaio	-
208	2028	A Coruña	Outes	Valladares	Touza

ANEXO 2: Parámetros de variabilidad genética en tres loci (*Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1*) estudiados en 199 ecotipos de trigo gallegos

Ecotipo	Na	Ng	RA	Ho	He	Fi	H	I	E
1	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
2	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
3	1,07	1,23	1,56	0,00	0,06	1,00	0,19	0,28	0,41
4	1,33	1,96	1,33	0,00	0,17	1,00	0,51	0,30	0,98
5	1,37	2,13	2,22	0,00	0,22	1,00	0,56	0,58	0,43
6	1,33	1,96	1,33	0,00	0,17	1,00	0,53	0,30	0,98
7	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
8	1,05	1,13	1,31	0,00	0,04	1,00	0,13	0,17	0,57
9	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
10	1,35	2,31	1,67	0,00	0,23	1,00	0,59	0,49	0,58
11	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
12	1,21	1,72	1,65	0,00	0,15	1,00	0,45	0,38	0,57
13	1,25	1,47	2,25	0,00	0,19	1,00	0,34	0,33	0,49
14	1,22	1,34	2,28	0,00	0,18	1,00	0,27	0,35	0,45
15	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
16	1,15	1,22	1,67	0,00	0,12	1,00	0,20	0,23	0,61
17	1,22	1,53	1,96	0,00	0,16	1,00	0,37	0,49	0,38
18	1,34	2,56	2,26	0,00	0,24	1,00	0,63	0,56	0,51
19	1,18	1,64	1,65	0,00	0,14	1,00	0,41	0,32	0,55
21	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
22	1,05	1,14	1,31	0,00	0,04	1,00	0,13	0,17	0,57
23	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
24	1,55	3,27	1,67	0,00	0,30	1,00	0,71	0,55	0,82
25	1,27	2,03	1,86	0,00	0,19	1,00	0,52	0,44	0,51
26	1,37	2,21	1,95	0,00	0,22	1,00	0,58	0,59	0,44
27	1,38	2,38	2,00	0,00	0,22	1,00	0,64	0,62	0,60
28	1,43	2,38	1,67	0,00	0,23	1,00	0,64	0,47	0,79
29	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,36	0,23	0,74
30	1,25	1,97	1,92	0,00	0,18	1,00	0,52	0,46	0,49
31	1,15	1,52	1,67	0,00	0,12	1,00	0,38	0,43	0,51
32	1,30	1,85	1,33	0,00	0,16	1,00	0,49	0,28	0,92
33	1,48	3,00	1,94	0,00	0,28	1,00	0,70	0,55	0,75
34	1,16	1,53	1,94	0,00	0,12	1,00	0,37	0,49	0,38
35	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
36	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
37	1,35	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,54	0,30	1,00
38	1,18	1,51	1,33	0,00	0,12	1,00	0,36	0,23	0,75
39	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00

Na: N° efectivo de alelos; Ng: N° efectivo de genotipos; RA: Riqueza alélica; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; Fi: Coeficiente de endogamia; H: Índice de diversidad de Nei; I: Índice de diversidad de Shannon corregido; E: Equitabilidad (evenness)

Anexo 2. Continuación

Ecotipo	Na	Ng	RA	Ho	He	Fi	H	I	E
40	1,20	1,68	1,61	0,00	0,14	1,00	0,42	0,32	0,56
41	1,60	3,37	1,67	0,00	0,31	1,00	0,74	0,57	0,84
42	1,38	2,25	1,65	0,00	0,21	1,00	0,58	0,49	0,56
43	1,36	2,30	1,66	0,00	0,22	1,00	0,58	0,45	0,58
44	1,52	3,11	1,67	0,00	0,29	1,00	0,70	0,55	0,78
45	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
46	1,40	2,18	1,97	0,00	0,25	1,00	0,58	0,43	0,73
47	1,35	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,54	0,30	1,00
48	1,24	1,85	1,66	0,00	0,17	1,00	0,48	0,36	0,62
49	1,10	1,30	1,33	0,00	0,08	1,00	0,25	0,19	0,65
50	1,26	1,75	1,33	0,00	0,15	1,00	0,46	0,27	0,88
51	1,40	2,25	1,66	0,00	0,22	1,00	0,60	0,44	0,75
52	1,33	2,17	1,67	0,00	0,21	1,00	0,60	0,46	0,72
53	1,20	1,66	1,64	0,00	0,14	1,00	0,43	0,36	0,55
54	1,05	1,14	1,31	0,00	0,04	1,00	0,13	0,17	0,57
55	1,03	1,08	1,24	0,00	0,03	1,00	0,08	0,12	0,54
56	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,74
57	1,39	2,15	1,66	0,00	0,23	1,00	0,56	0,40	0,72
58	1,13	1,44	1,60	0,00	0,11	1,00	0,32	0,26	0,48
59	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
61	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
62	1,43	2,62	2,49	0,00	0,25	1,00	0,64	0,73	0,37
63	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
64	1,04	1,10	1,28	0,00	0,03	1,00	0,10	0,14	0,55
68	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
69	1,31	2,14	1,65	0,00	0,20	1,00	0,55	0,39	0,71
70	1,29	2,14	1,82	0,00	0,20	1,00	0,54	0,44	0,54
71	1,13	1,38	1,33	0,00	0,09	1,00	0,29	0,20	0,69
72	1,33	1,95	1,33	0,00	0,17	1,00	0,51	0,30	0,98
73	1,22	1,52	1,98	0,00	0,18	1,00	0,36	0,31	0,51
74	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
75	1,10	1,30	1,33	0,00	0,08	1,00	0,25	0,19	0,65
76	1,21	1,51	1,65	0,00	0,15	1,00	0,36	0,35	0,50
77	1,05	1,14	1,31	0,00	0,04	1,00	0,13	0,17	0,57
78	1,47	2,70	1,67	0,00	0,26	1,00	0,65	0,45	0,90
79	1,27	1,95	1,65	0,00	0,18	1,00	0,51	0,37	0,65
80	1,17	1,49	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,75
81	1,34	2,09	1,61	0,00	0,19	1,00	0,54	0,43	0,52
82	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
83	1,17	1,51	1,33	0,00	0,11	1,00	0,35	0,23	0,75
84	1,17	1,49	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,75
85	1,24	1,85	1,66	0,00	0,17	1,00	0,48	0,36	0,62

Na: N° efectivo de alelos; Ng: N° efectivo de genotipos; RA: Riqueza alélica; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; Fi: Coeficiente de endogamia; H: Índice de diversidad de Nei; I: Índice de diversidad de Shannon corregido; E: Equitabilidad (evenness)

Anexo 2. Continuación

Ecotipo	Na	Ng	RA	Ho	He	Fi	H	I	E
86	1,10	1,23	1,54	0,00	0,08	1,00	0,19	0,22	0,41
87	1,37	2,38	1,66	0,00	0,22	1,00	0,61	0,42	0,79
88	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
89	1,17	1,51	1,33	0,00	0,11	1,00	0,35	0,23	0,75
90	1,05	1,16	1,30	0,00	0,05	1,00	0,14	0,12	0,58
91	1,04	1,12	1,28	0,00	0,04	1,00	0,11	0,11	0,56
92	1,32	2,04	1,65	0,00	0,20	1,00	0,53	0,46	0,51
93	1,10	1,30	1,33	0,00	0,08	1,00	0,25	0,19	0,65
94	1,15	1,32	1,94	0,00	0,13	1,00	0,26	0,34	0,44
95	1,39	2,28	1,65	0,00	0,21	1,00	0,60	0,44	0,76
96	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
97	1,32	2,22	1,66	0,00	0,21	1,00	0,56	0,40	0,74
98	1,38	2,25	1,75	0,00	0,21	1,00	0,57	0,46	0,56
99	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
100	1,10	1,30	1,33	0,00	0,08	1,00	0,25	0,19	0,65
101	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
102	1,22	1,64	1,33	0,00	0,13	1,00	0,42	0,25	0,82
103	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
104	1,10	1,30	1,33	0,00	0,08	1,00	0,25	0,19	0,65
106	1,08	1,23	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,16	0,62
107	1,05	1,14	1,31	0,00	0,04	1,00	0,13	0,17	0,57
108	1,27	1,92	1,65	0,00	0,18	1,00	0,51	0,40	0,64
109	1,47	2,95	1,96	0,00	0,27	1,00	0,70	0,56	0,74
110	1,35	2,44	1,87	0,00	0,23	1,00	0,61	0,49	0,61
111	1,17	1,59	1,66	0,00	0,13	1,00	0,39	0,33	0,53
112	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,74
113	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
114	1,36	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,56	0,30	1,00
115	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
116	1,35	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,54	0,30	1,00
117	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
118	1,10	1,34	1,64	0,00	0,09	1,00	0,27	0,35	0,45
119	1,26	1,74	1,33	0,00	0,15	1,00	0,46	0,27	0,87
120	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
121	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
122	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
123	1,24	1,69	1,62	0,00	0,14	1,00	0,43	0,36	0,56
124	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
125	1,05	1,15	1,32	0,00	0,05	1,00	0,14	0,18	0,58
126	1,33	2,17	1,67	0,00	0,21	1,00	0,60	0,46	0,72
127	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,74
128	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00

Na: N° efectivo de alelos; Ng: N° efectivo de genotipos; RA: Riqueza alélica; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; Fi: Coeficiente de endogamia; H: Índice de diversidad de Nei; I: Índice de diversidad de Shannon corregido; E: Equitabilidad (evenness)

Anexo 2. Continuación

Ecotipo	Na	Ng	RA	Ho	He	Fi	H	I	E
129	1,20	1,71	1,95	0,00	0,15	1,00	0,44	0,48	0,43
130	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,36	0,23	0,74
131	1,40	2,34	1,83	0,00	0,22	1,00	0,60	0,49	0,59
132	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
133	1,15	1,51	1,65	0,00	0,12	1,00	0,36	0,35	0,50
134	1,04	1,12	1,29	0,00	0,04	1,00	0,11	0,15	0,56
135	1,38	2,15	2,24	0,00	0,21	1,00	0,55	0,53	0,43
136	1,30	1,85	1,67	0,00	0,16	1,00	0,51	0,44	0,62
137	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,36	0,23	0,74
138	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
139	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
140	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
141	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
142	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
143	1,21	1,60	1,33	0,00	0,13	1,00	0,41	0,25	0,80
144	1,33	1,92	1,33	0,00	0,17	1,00	0,53	0,29	0,96
145	1,35	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,54	0,30	1,00
146	1,15	1,44	1,33	0,00	0,10	1,00	0,33	0,21	0,72
147	1,05	1,15	1,32	0,00	0,05	1,00	0,14	0,18	0,58
149	1,23	1,67	1,33	0,00	0,14	1,00	0,42	0,26	0,84
150	1,26	1,76	1,33	0,00	0,15	1,00	0,46	0,27	0,88
151	1,45	2,45	1,91	0,00	0,26	1,00	0,62	0,50	0,61
152	1,07	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,19	0,16	0,61
153	1,12	1,34	1,33	0,00	0,09	1,00	0,27	0,19	0,67
154	1,33	1,92	1,33	0,00	0,17	1,00	0,53	0,29	0,96
155	1,21	1,60	1,33	0,00	0,13	1,00	0,39	0,24	0,80
156	1,34	1,98	1,33	0,00	0,17	1,00	0,52	0,30	0,99
157	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
158	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
159	1,60	2,94	2,00	0,00	0,34	1,00	0,73	0,62	0,74
160	1,55	2,37	1,98	0,00	0,29	1,00	0,62	0,54	0,59
162	1,54	2,95	1,67	0,00	0,30	1,00	0,70	0,47	0,98
163	1,17	1,49	1,33	0,00	0,11	1,00	0,34	0,22	0,75
164	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
165	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
166	1,04	1,10	1,28	0,00	0,03	1,00	0,10	0,14	0,55
167	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
168	1,11	1,32	1,33	0,00	0,08	1,00	0,26	0,19	0,66
169	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
170	1,43	2,64	1,67	0,00	0,25	1,00	0,65	0,52	0,66
171	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
172	1,65	3,17	1,99	0,00	0,32	1,00	0,72	0,56	0,79

Na: N° efectivo de alelos; Ng: N° efectivo de genotipos; RA: Riqueza alélica; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; Fi: Coeficiente de endogamia; H: Índice de diversidad de Nei; I: Índice de diversidad de Shannon corregido; E: Equitabilidad (evenness)

Anexo 2. Continuación

Ecotipo	Na	Ng	RA	Ho	He	Fi	H	I	E
173	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
174	1,11	1,32	1,33	0,00	0,08	1,00	0,26	0,18	0,66
175	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,36	0,23	0,74
176	1,30	1,85	1,33	0,00	0,16	1,00	0,49	0,28	0,92
177	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
179	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
180	1,09	1,26	1,33	0,00	0,07	1,00	0,22	0,17	0,63
181	1,34	2,38	2,00	0,00	0,23	1,00	0,64	0,62	0,60
182	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
183	1,09	1,25	1,33	0,00	0,07	1,00	0,22	0,24	0,62
184	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
185	1,24	1,85	1,67	0,00	0,17	1,00	0,51	0,44	0,62
186	1,10	1,14	1,63	0,00	0,08	1,00	0,13	0,17	0,57
187	1,33	1,95	1,33	0,00	0,17	1,00	0,51	0,30	0,98
188	1,28	1,81	1,59	0,00	0,17	1,00	0,47	0,36	0,60
189	1,18	1,52	1,33	0,00	0,12	1,00	0,36	0,23	0,76
190	1,47	2,86	1,67	0,00	0,27	1,00	0,68	0,47	0,95
191	1,26	1,77	1,67	0,00	0,19	1,00	0,47	0,50	0,44
192	1,28	1,80	1,33	0,00	0,15	1,00	0,48	0,28	0,90
193	1,12	1,41	1,62	0,00	0,10	1,00	0,31	0,31	0,47
194	1,08	1,00	1,33	0,00	0,06	1,00	0,00	0,00	1,00
195	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
196	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
197	1,16	1,47	1,33	0,00	0,11	1,00	0,36	0,23	0,74
198	1,26	1,72	1,33	0,00	0,14	1,00	0,47	0,27	0,86
199	1,15	1,52	1,67	0,00	0,12	1,00	0,38	0,43	0,51
200	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00		0,00	0,00	1,00
201	1,36	2,00	1,33	0,00	0,17	1,00	0,56	0,30	1,00
202	1,08	1,22	1,33	0,00	0,06	1,00	0,20	0,23	0,61
203	1,63	3,57	2,33	0,00	0,37	1,00	0,80	0,79	0,71
204	1,24	1,52	1,67	0,00	0,17	1,00	0,38	0,43	0,51
205	1,83	2,78	2,33	0,00	0,39	1,00	0,71	0,63	0,69
206	1,18	1,52	1,67	0,00	0,12	1,00	0,38	0,43	0,51
207	1,66	3,85	1,67	0,00	0,33	1,00	0,78	0,60	0,96
208	1,58	2,78	2,00	0,00	0,30	1,00	0,71	0,63	0,69
Media	1,20	1,64	1,45	0,00	0,12	1,00	0,34	0,27	0,74
Desviación estándar	0,17	0,60	0,34	0,00	0,09	0,00	0,23	0,19	0,19
Error estándar*	0,01	0,04	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	0,01	0,01

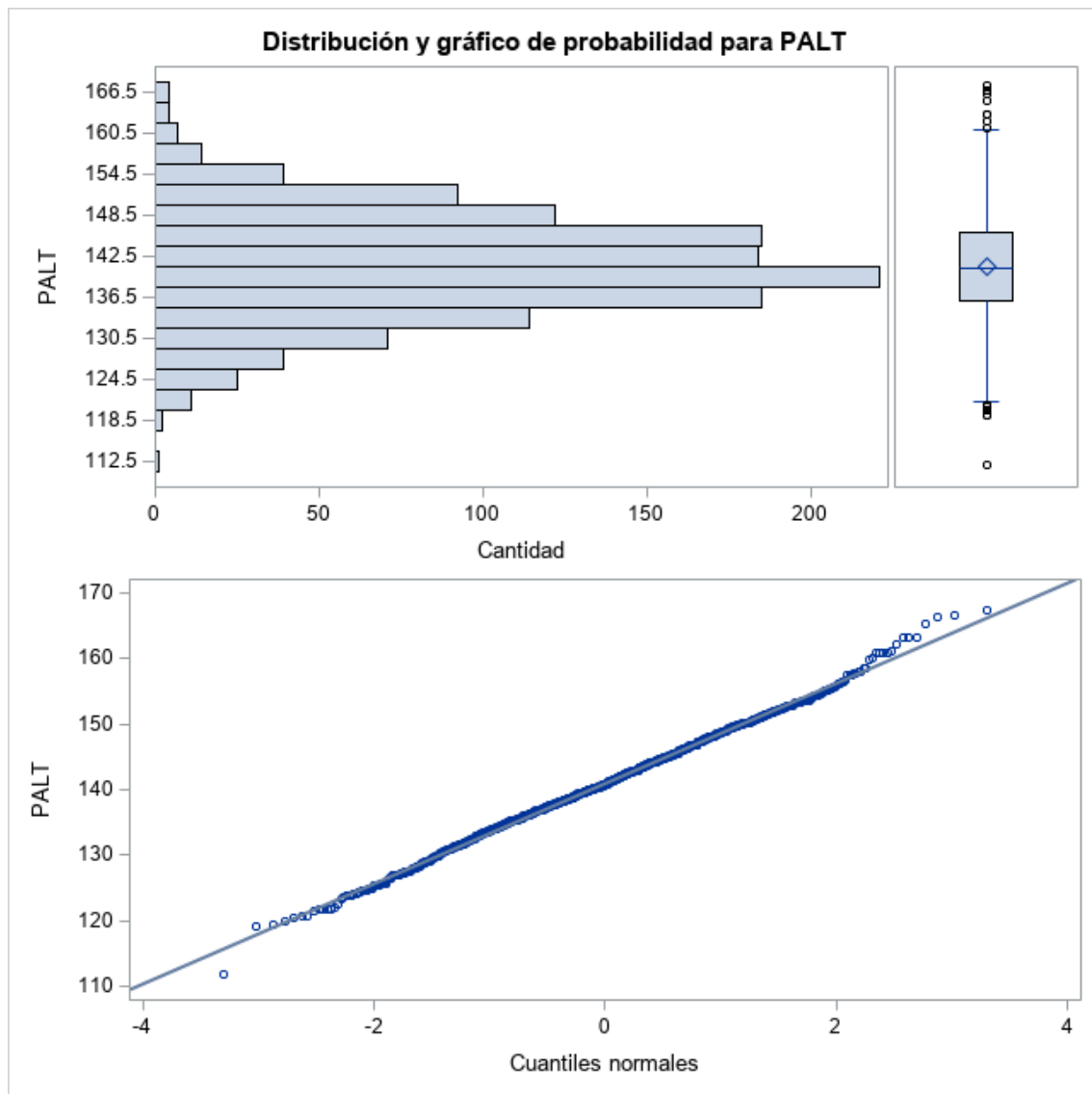
Na: N° efectivo de alelos; Ng: N° efectivo de genotipos; RA: Riqueza alélica; Ho: Heterocigosidad observada; He: Heterocigosidad esperada; Fi: Coeficiente de endogamia; H: Índice de diversidad de Nei; I: Índice de diversidad de Shannon corregido; E: Equitabilidad (evenness)

*Error estándar de la media

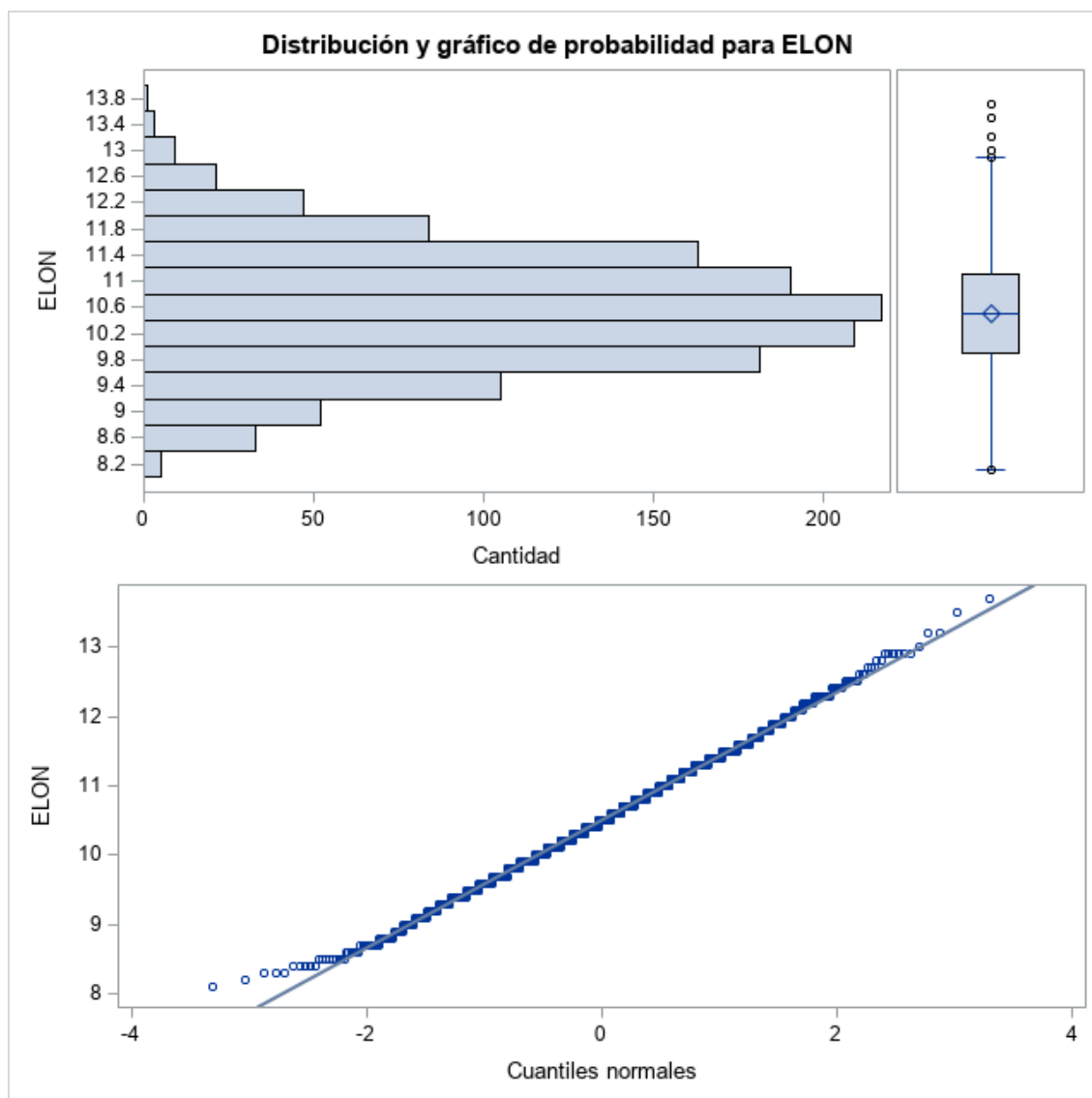
ANEXO 3: Tabla de 110 accesiones incluidas en los ensayos de campo (n°Eny), con su equivalencia de numeración del Banco de Germoplasma (n°BG)

N° ENY	N° BG	N° ENY	N° BG	N° ENY	N° BG
2	1758	121	1911	159	1954
3	1759	122	1912	160	1955
19	1775	123	1913	162	1957
21	1777	124	1914	163	1958
22	1778	125	1915	164	1959
61	1817	126	1916	165	1960
68	1824	127	1917	166	1961
70	1826	128	1918	167	1962
91	1848	129	1919	168	1963
92	1849	130	1920	169	1964
93	1850	131	1921	170	1965
94	1852	132	1922	171	1966
95	1857	133	1923	172	1967
96	1858	134	1924	173	1969
97	1864	135	1925	174	1970
98	1865	136	1926	175	1971
99	1868	137	1927	176	1972
100	1869	138	1928	177	1975
101	1872	139	1929	179	1980
102	1873	140	1930	180	1984
103	1874	141	1931	181	1985
104	1875	142	1932	182	1986
106	1879	143	1934	183	1987
107	1880	144	1935	184	1988
108	1881	145	1936	185	1989
109	1882	146	1937	186	1990
110	1883	147	1938	187	1991
111	1886	149	1942	188	1992
112	1887	150	1943	189	1993
113	1889	151	1944	190	1994
114	1890	152	1945	191	1996
115	1891	153	1946	192	1997
116	1906	154	1947	193	1998
117	1907	155	1949	194	2029
118	1908	156	1950	195	2030
119	1909	157	1952	196	2031
120	1910	158	1953		

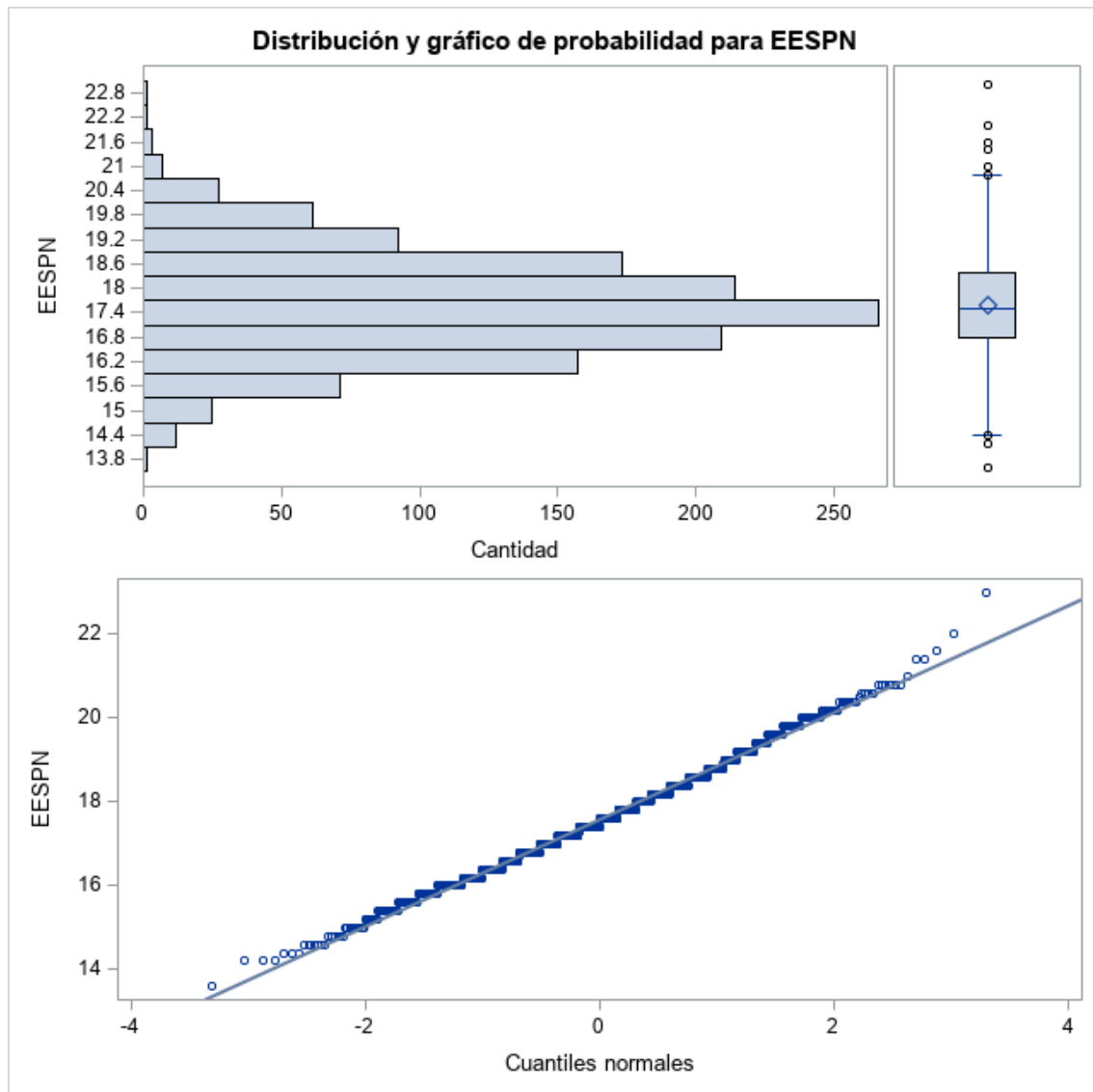
ANEXO 4: Histograma y gráfico de cuantiles de los descriptores agromorfológicos y de calidad de grano (PALT, ELON, EESPN, DESP, DMAD, EDEN, ENC, RDTO, PHL, PMS, PROT, SDSS) para el estudio de la normalidad de los datos



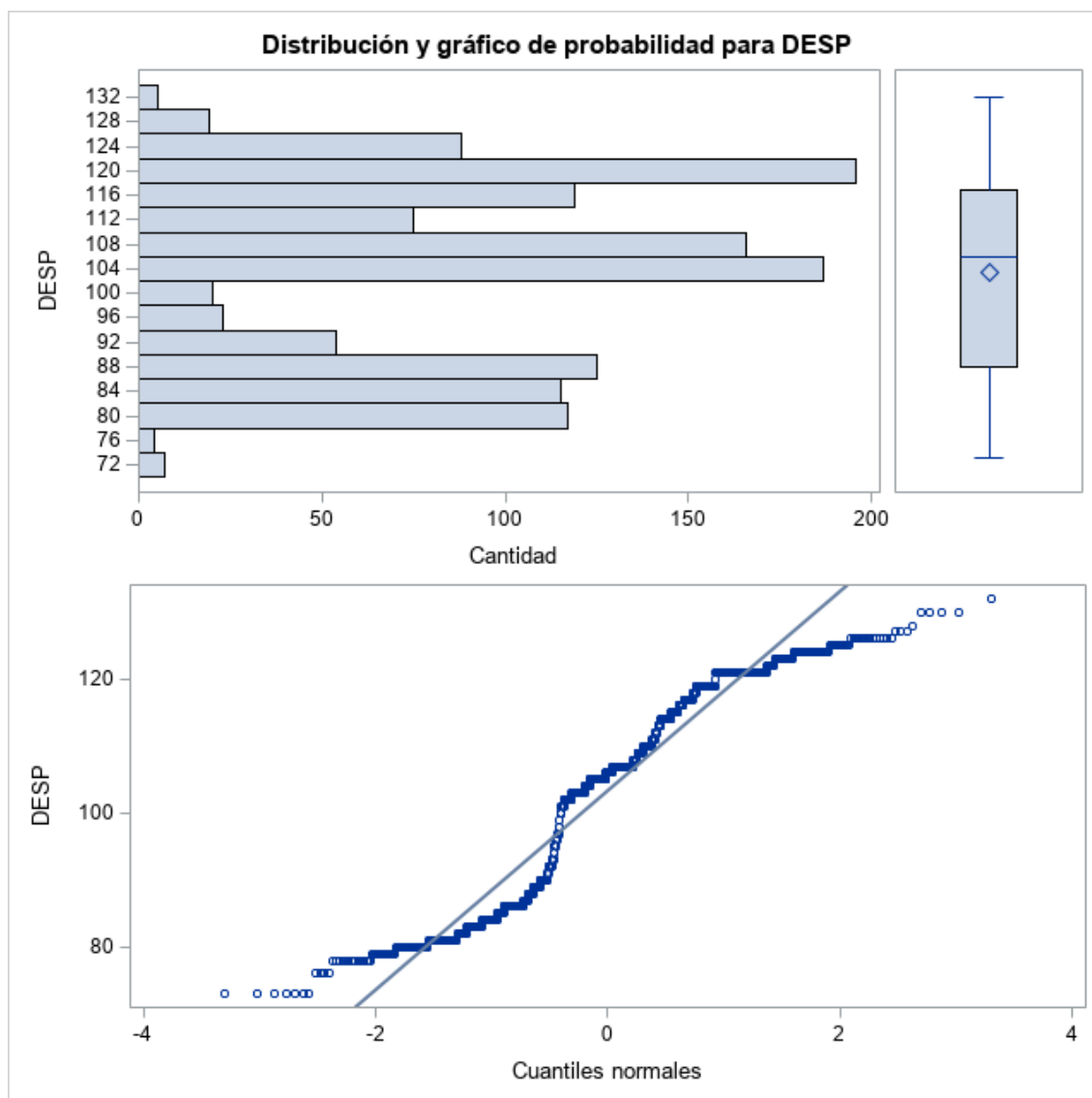
Anexo 4. Continuación



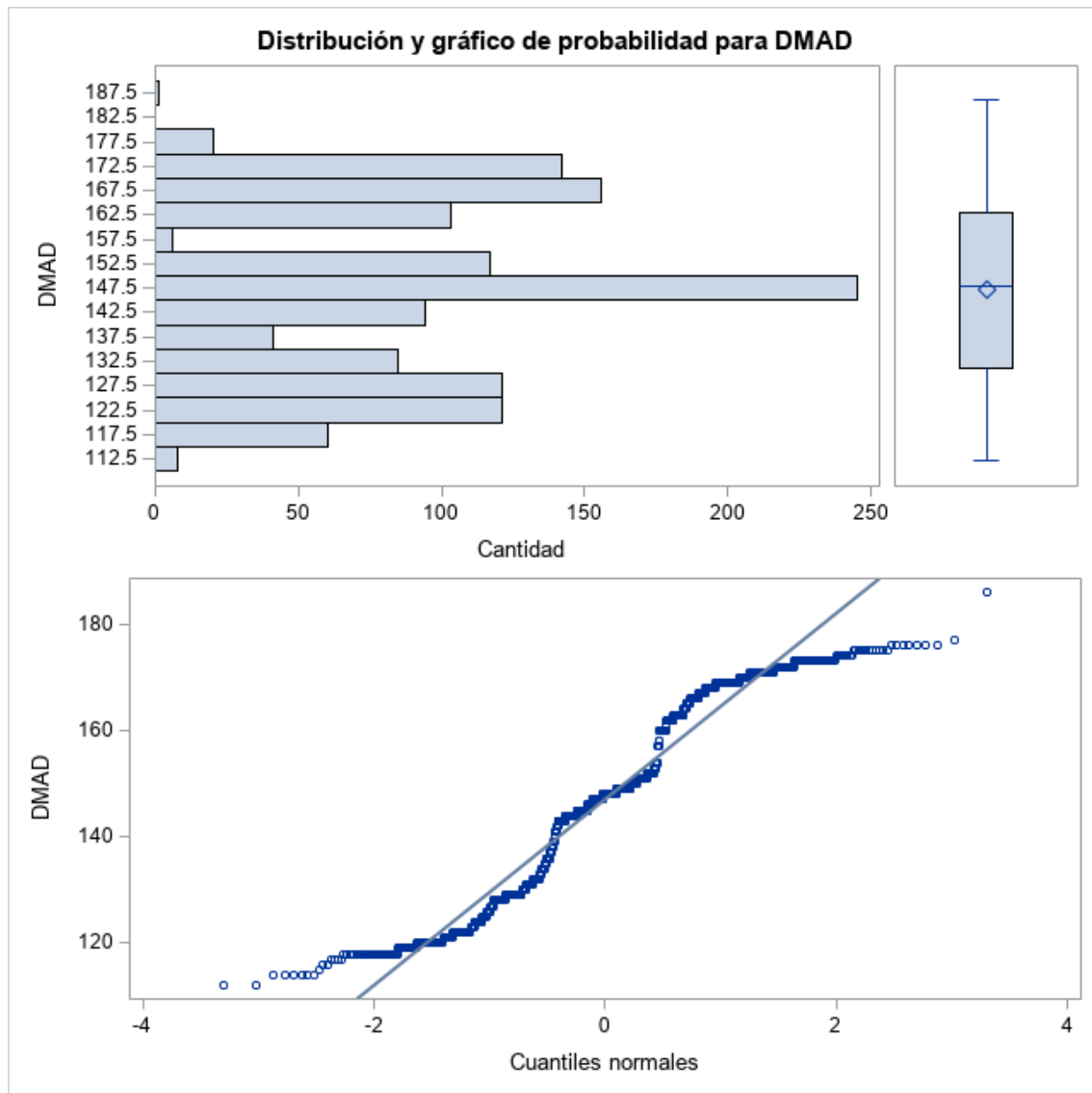
Anexo 4. Continuación



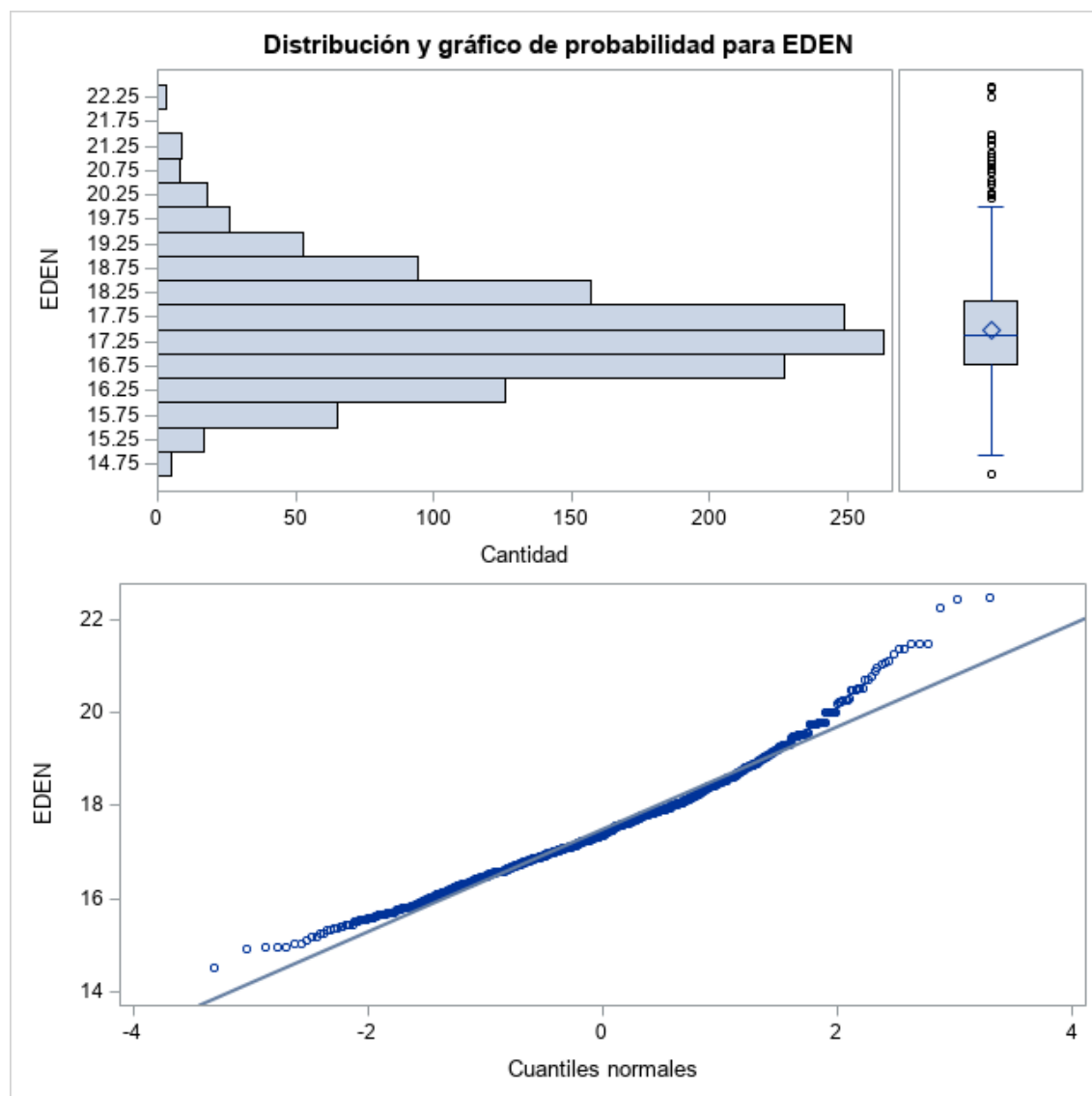
Anexo 4. Continuación



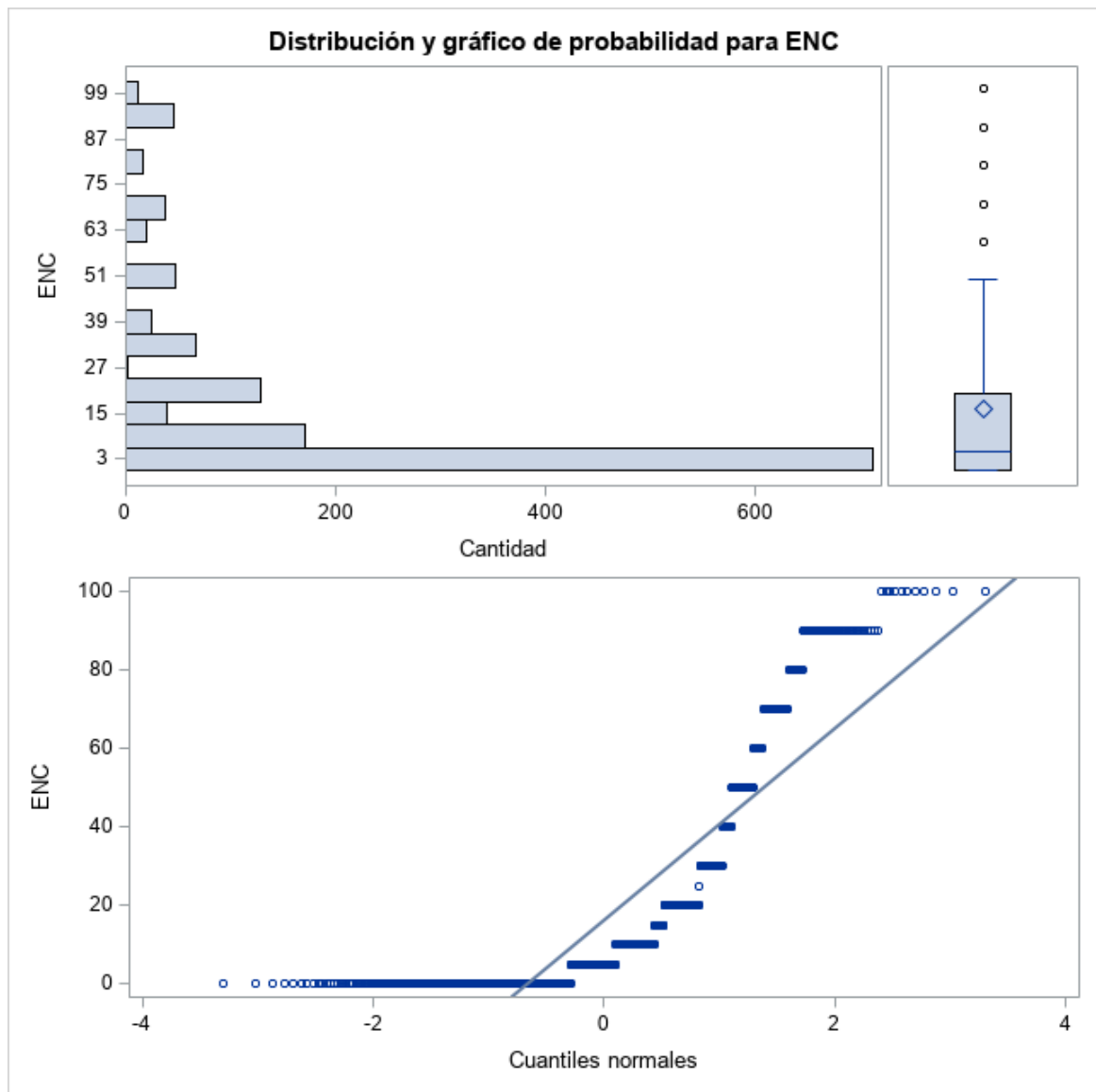
Anexo 4. Continuación



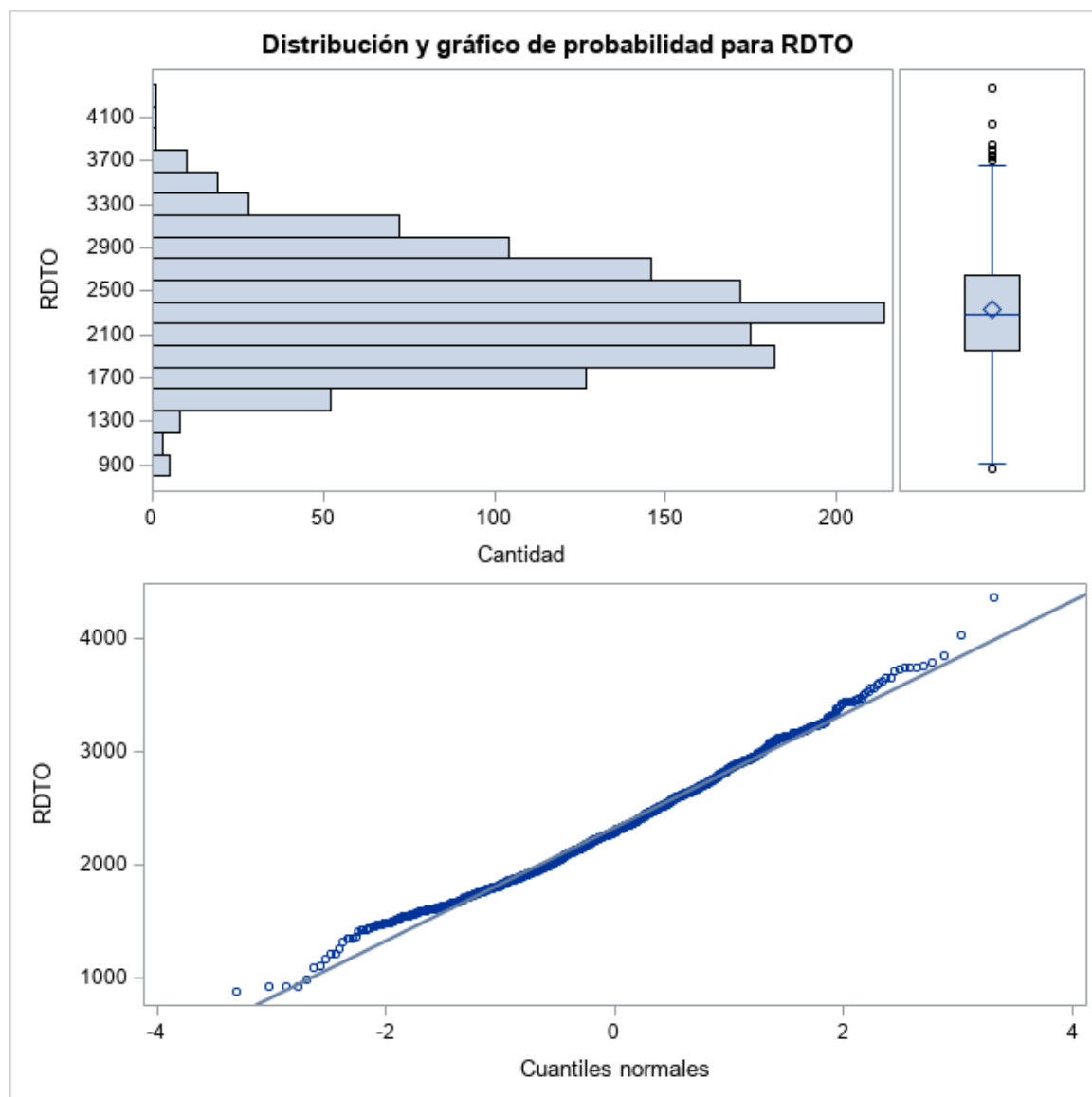
Anexo 4. Continuación



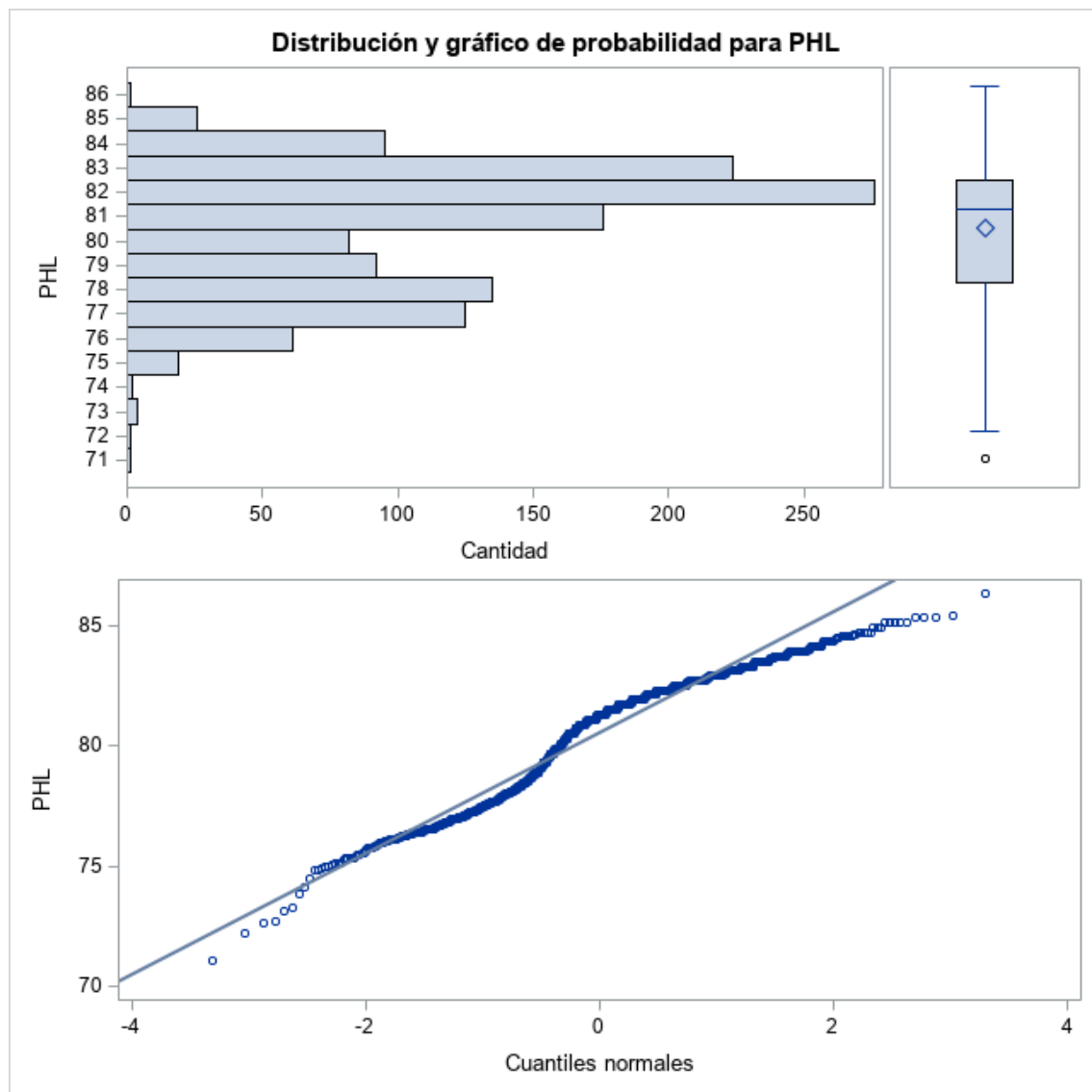
Anexo 4. Continuación



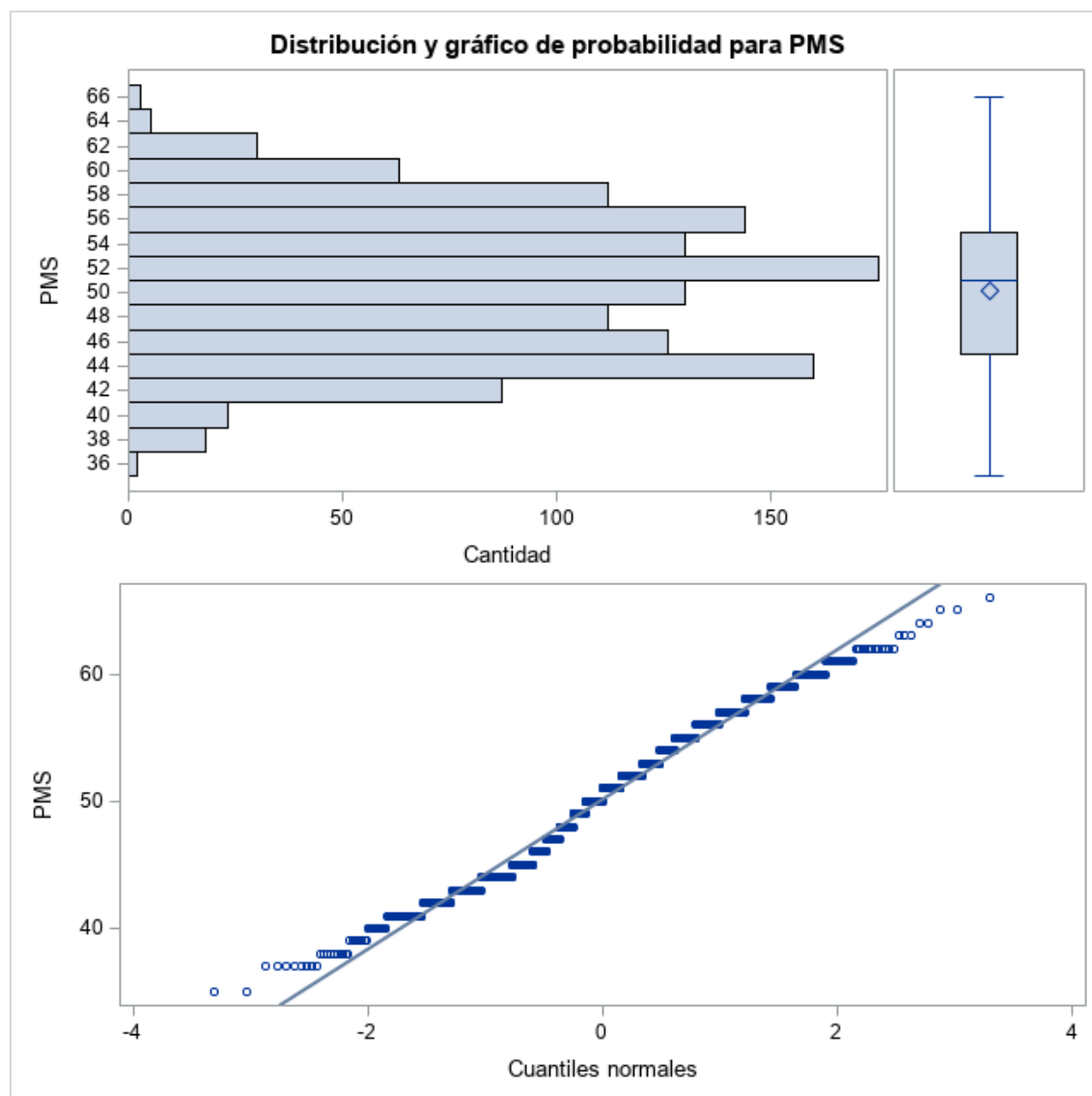
Anexo 4. Continuación



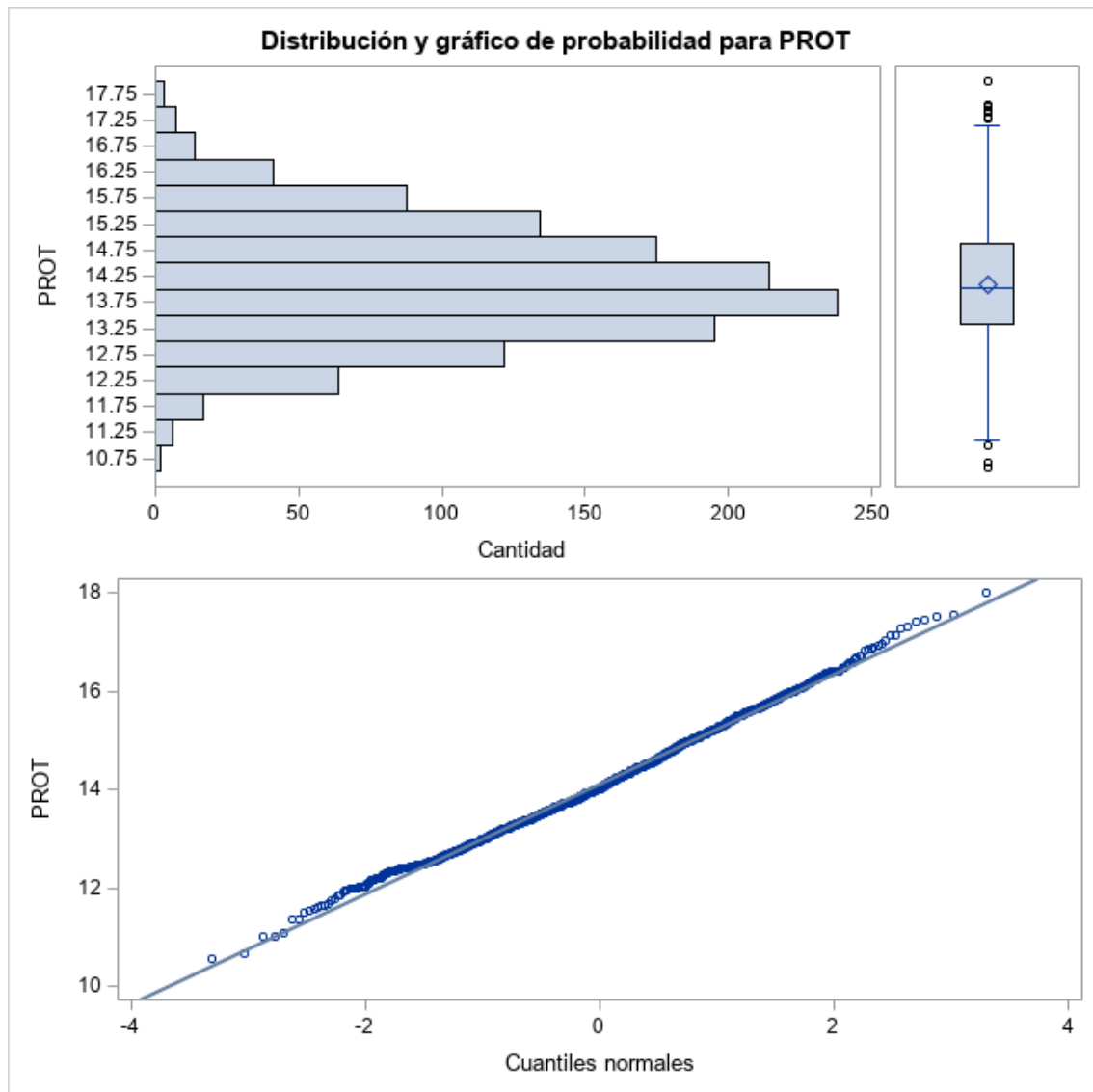
Anexo 4. Continuación



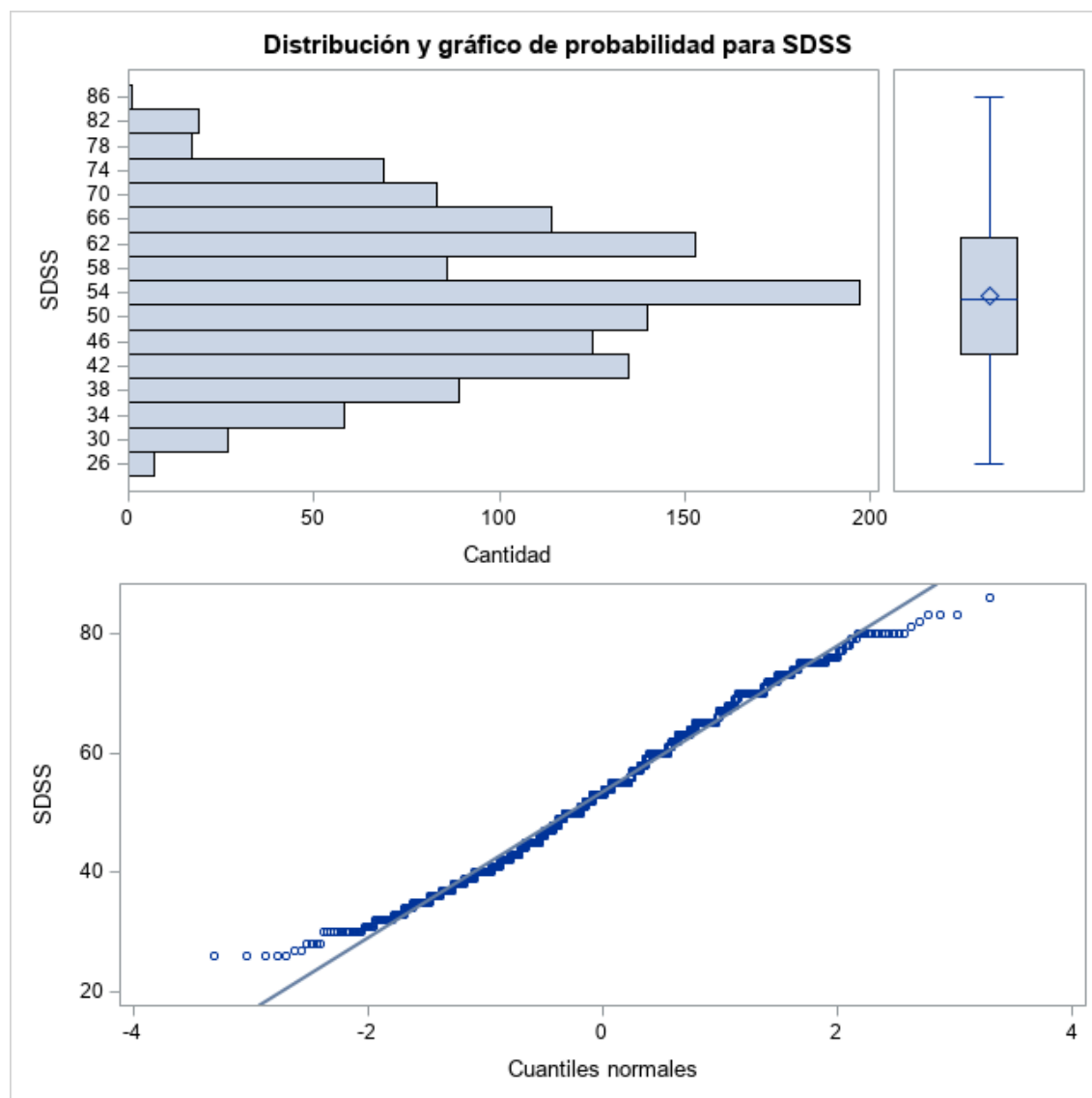
Anexo 4. Continuación



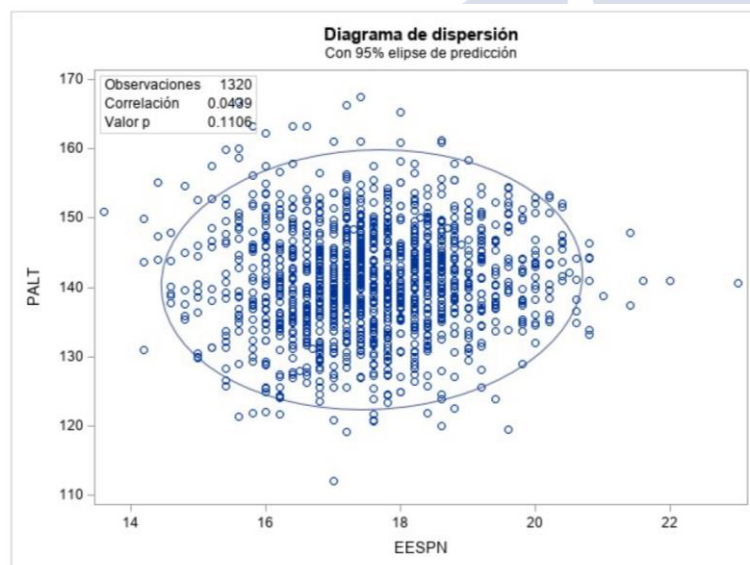
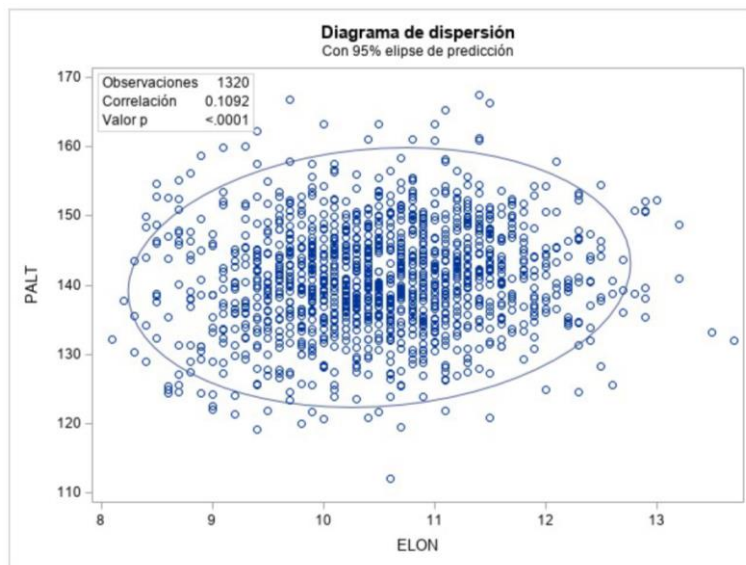
Anexo 4. Continuación



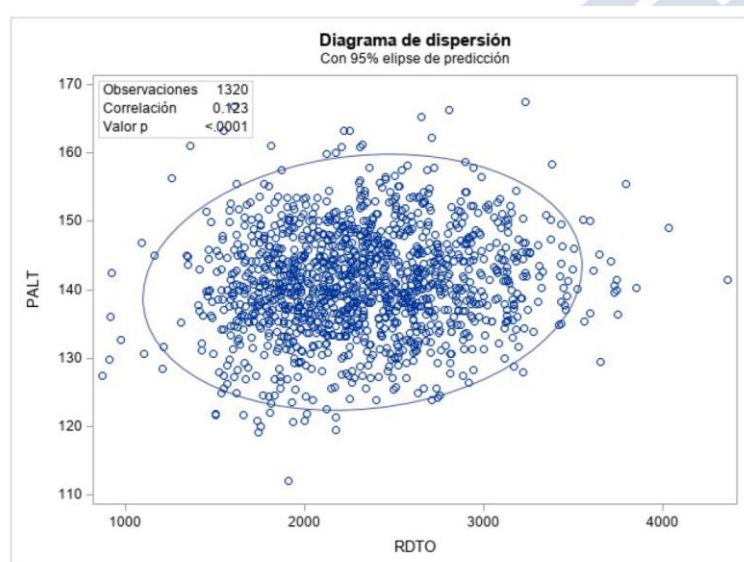
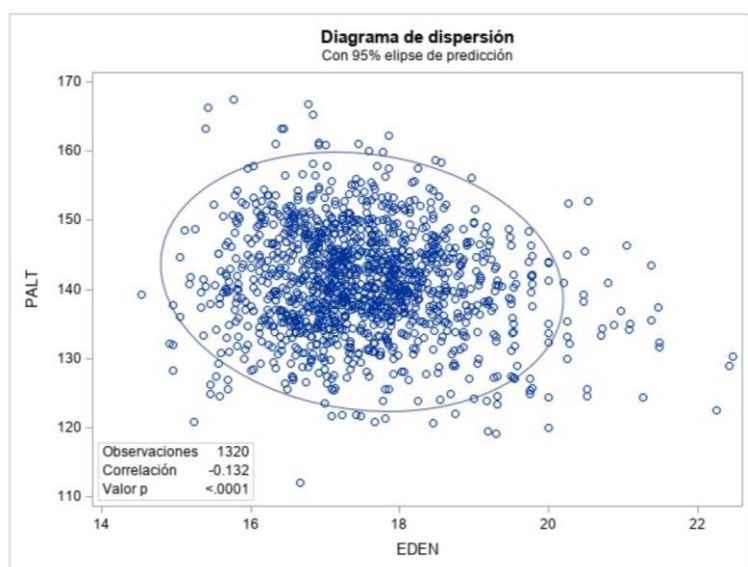
Anexo 4. Continuación



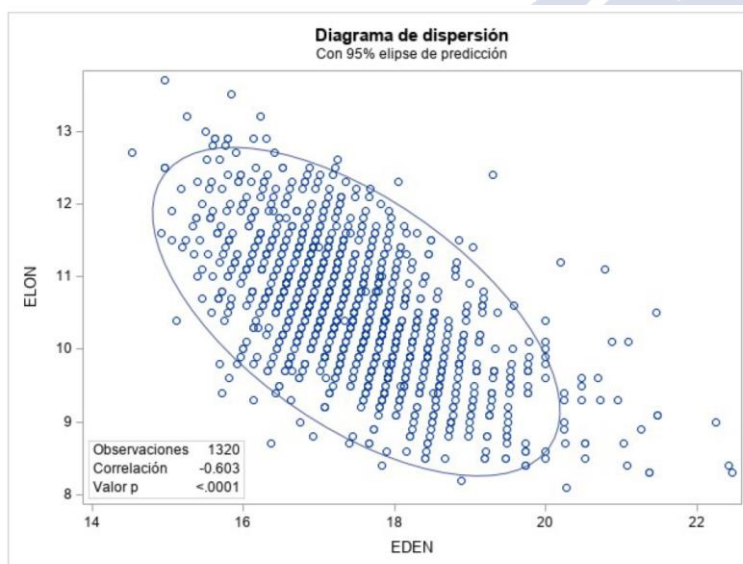
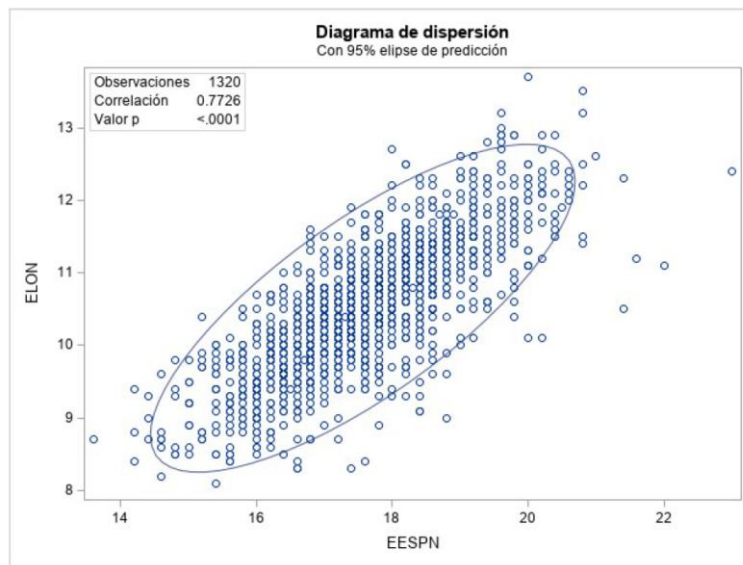
ANEXO 5: Diagramas de dispersión del procedimiento CORR del SAS 9.4., calculados entre cada par de descriptores agromorfológicos cuantitativos (PALT, ELON, EESPN, EDEN, RDTO, DESP, DMAD)



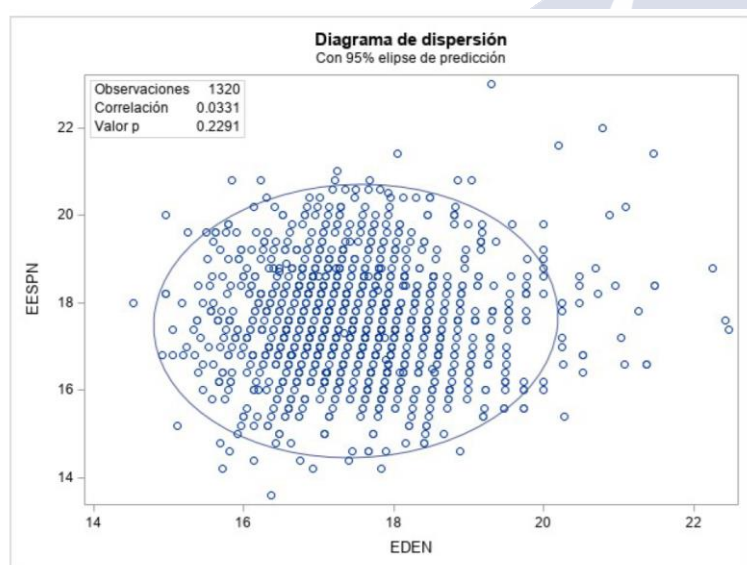
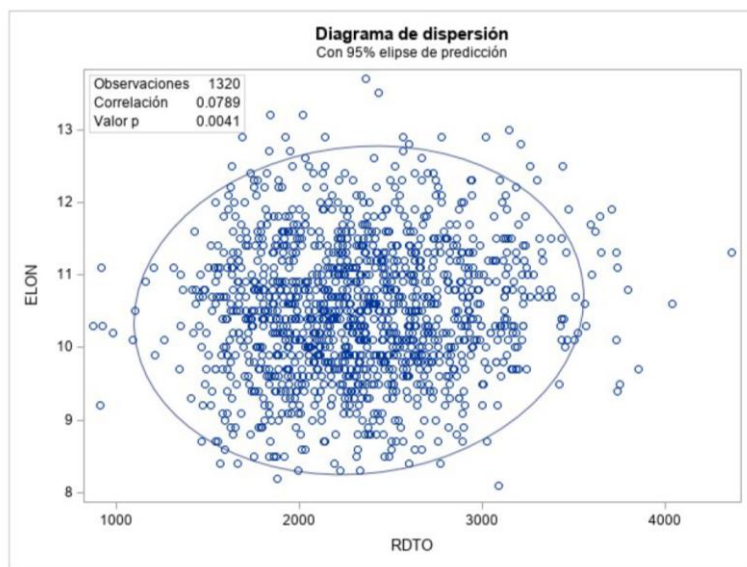
Anexo 5. Continuación



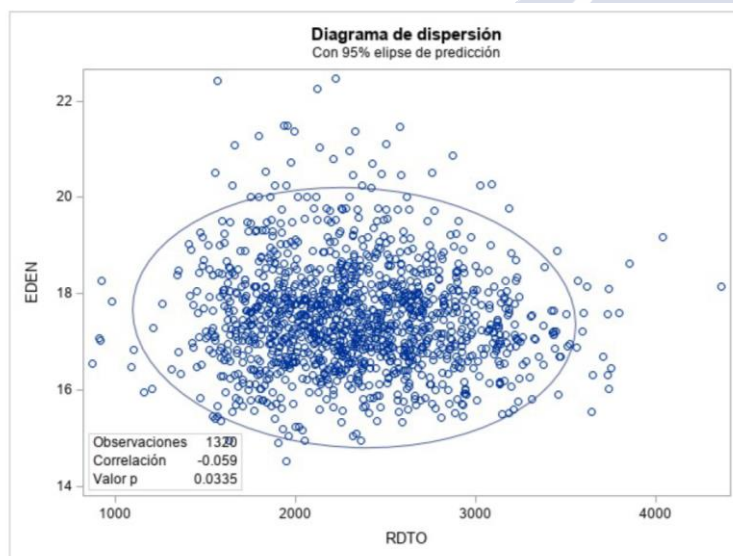
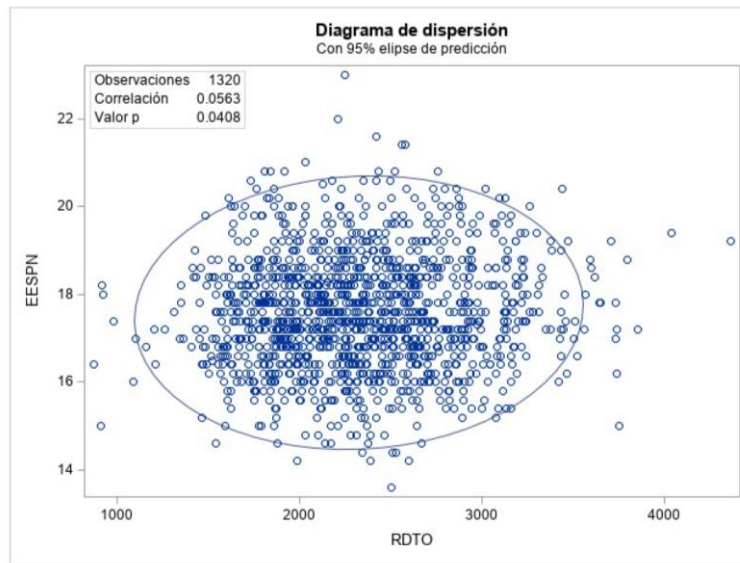
Anexo 5. Continuación



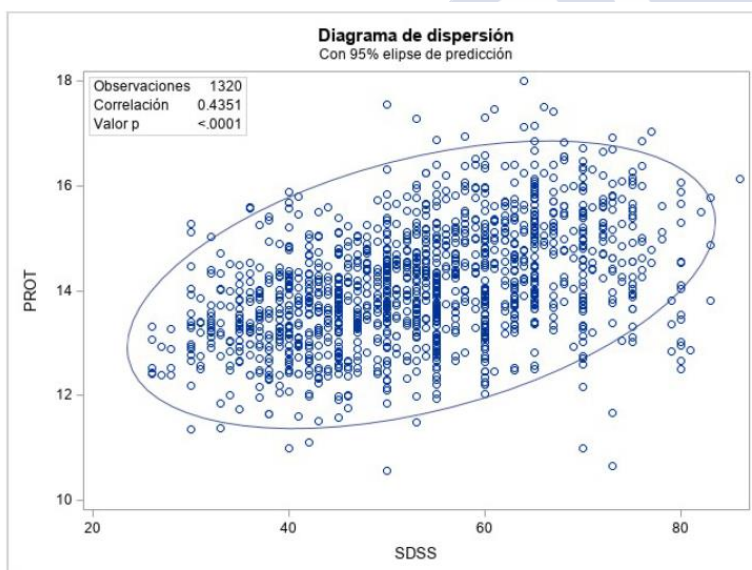
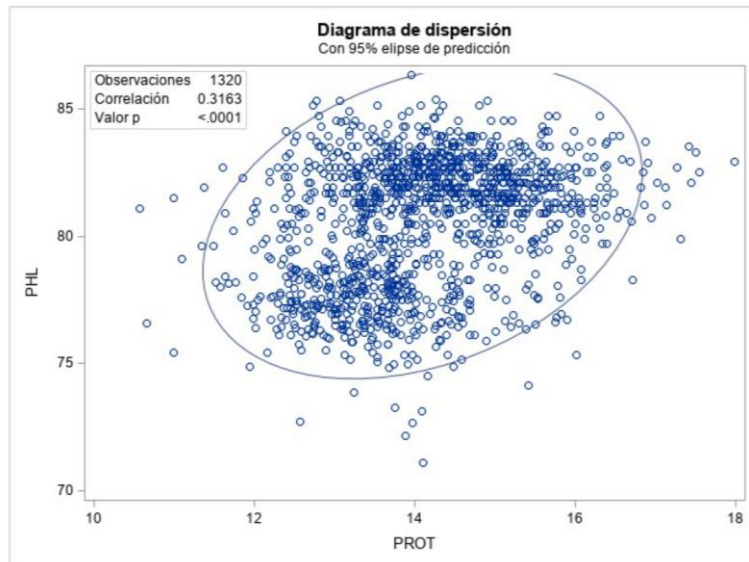
Anexo 5. Continuación



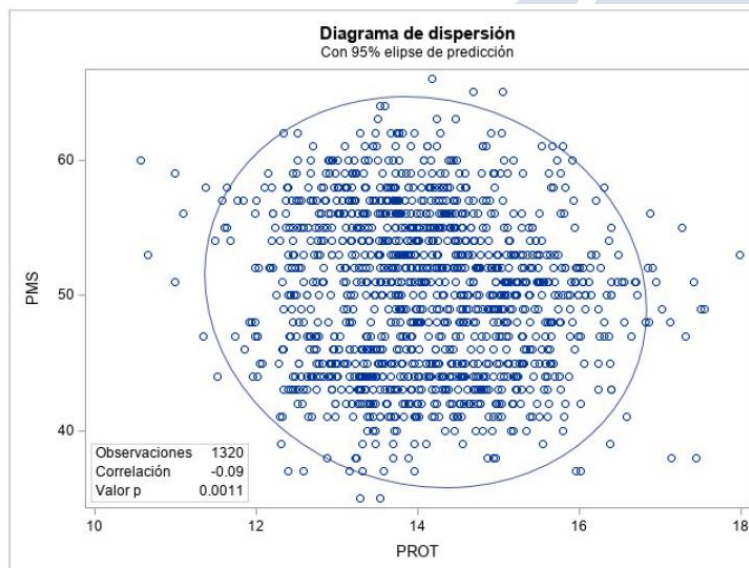
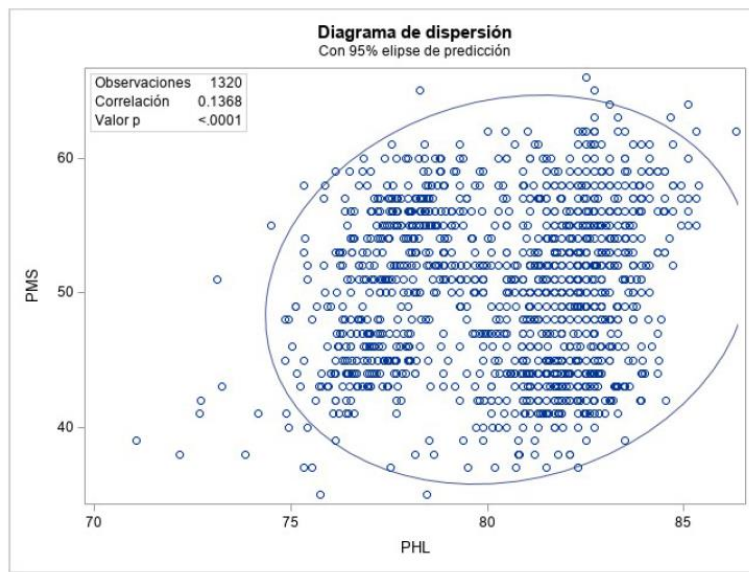
Anexo 5. Continuación



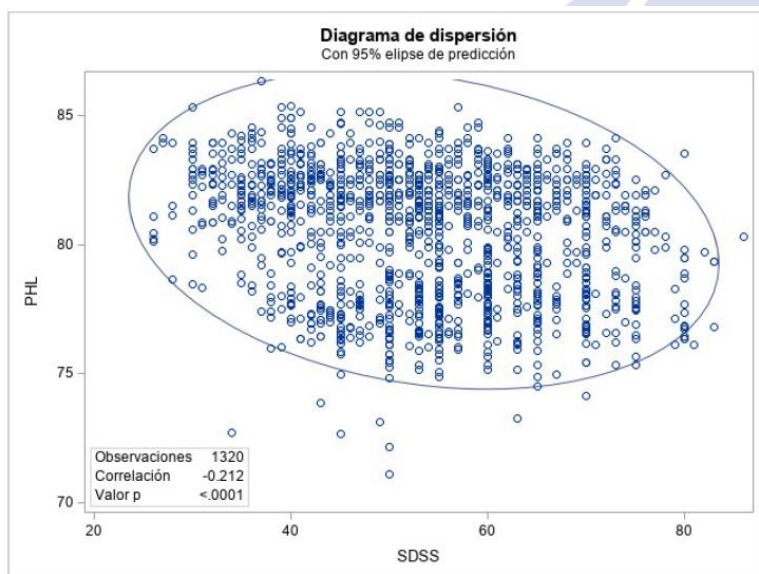
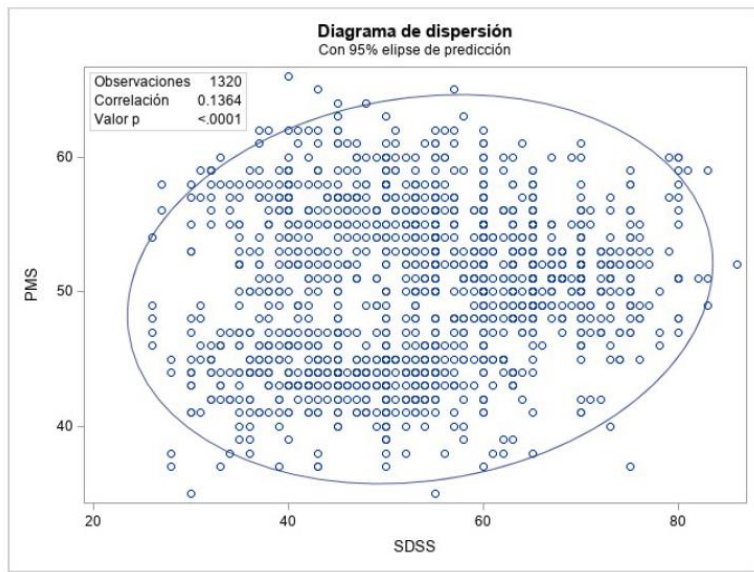
ANEXO 6: Diagramas de dispersión del procedimiento CORR del SAS 9.4, calculados entre cada par de descriptores de calidad de grano (PHL, PMS, PROT, SDSS) y el rendimiento (RDTO)



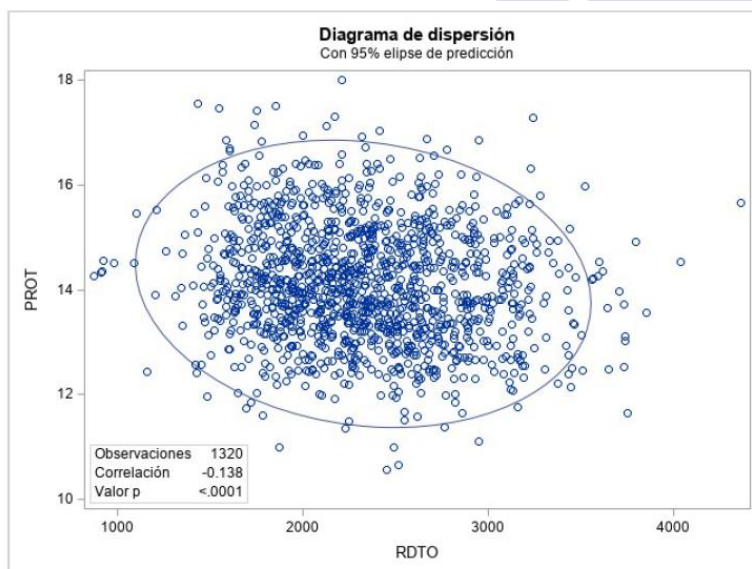
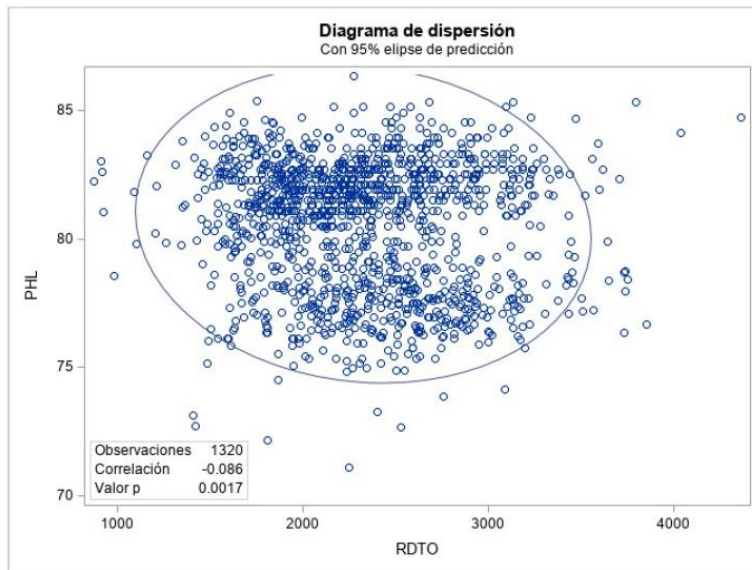
Anexo 6. Continuación



Anexo 6. Continuación.



Anexo 6. Continuación.



Anexo 6. Continuación.

